

Neue Perzentilen für ALT, AST und GGT im Kindes- und Jugendalter – beeinflusst von Alter, Geschlecht, Pubertät und BMI

Publikationsbasierte Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med.

an der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht von: Sarah Bußler
geboren am 09.12.1993 in Münchberg

Angefertigt an: Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

Betreut von: Prof. Dr. med. Wieland Kieß
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

Dr. med. Gunter Flemming
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 21.09.2021

Inhaltsverzeichnis

I Abkürzungsverzeichnis	3
II Abbildungsverzeichnis	4
III Tabellenverzeichnis	5
1 Vorbemerkungen.....	6
1.1 Vorbemerkungen zum Studienprojekt.....	6
1.2 Vorbemerkungen zu LIFE CHILD	6
2 Einführung in die Thematik	7
2.1 Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung im Kindes- und Jugendalter.....	7
2.1.1 NAFLD: Definition, Epidemiologie und klinisches Erscheinungsbild	7
2.1.2 NAFLD: Histologie und Pathogenese	9
2.1.3 NAFLD: Screening und Diagnostik.....	10
2.2 Die Bedeutung der Transaminasen ALT, AST und GGT im Kindes- und Jugendalter	13
2.2.1 Charakteristika und Assoziationen der Transaminasen ALT, AST und GGT	13
2.2.2 Die Rolle von ALT, AST und GGT in Screening und Diagnostik von NAFLD	17
2.3 Pädiatrische Referenzwerte von ALT, AST und GGT.....	19
2.3.1 Anforderungen an pädiatrische Referenzwerte	19
2.3.2 Aktuelle Datenlage: Pädiatrische Referenzwerte von ALT, AST und GGT	21
2.4 Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit.....	22
3 Fragestellungen und Hypothesen.....	23
4 Publikation.....	24
5 Zusammenfassung der Arbeit	38
6 Literaturverzeichnis	43
IV Anlagen.....	53
IV. A Anlagen zur Dissertation.....	53
IV. B Ergänzungsmaterial zur wissenschaftlichen Publikation	57
V Darstellung des eigenen Beitrags.....	67
VI Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit	68

I Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
BMI	Body-Mass-Index
CALIPER	The CANadian Laboratory Initiative on PEdiatric Reference Intervals
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
ELF	Enhanced Liver Fibrosis
ESPGHAN	European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology And Nutrition
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
HDL-Cholesterin	High-Density-Lipoprotein-Cholesterin
HOMA-IR	Homeostasis Modell Assessment Test-Insulinresistenz
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
IR	Insulinresistenz
KiGGS	Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (des Robert Koch-Instituts)
LMS	Schiefe (L), Median (M), Variationskoeffizient (S)
MetS	Metabolisches Syndrom
MRS	Magnetresonanztomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
NAFL	Non-alcoholic fatty liver
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease
NASH	Non-alcoholic steatohepatitis
NASPGHAN	North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology And Nutrition
PNFS/I	Pediatric NAFLD Fibrosis Score/Index
SAFETY	Screening ALT for Elevation in Today's Youth
SDS	Standard-Deviation-Score
WHO	World Health Organization

II Abbildungsverzeichnis

In: IV.A Anlagen zur Dissertation

- Abbildung 1 Schematische Darstellung eines Hepatozyten: vorwiegende Lokalisationen von ALT, AST und GGT.
- Abbildung 2 Darstellung des Zusammenhangs zwischen ALT (Alanin-Aminotransferase) und Alter unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen Alter und Pubertätsstatus.
- Abbildung 3 Darstellung des Zusammenhangs zwischen ALT (Alanin-Aminotransferase) und BMI-SDS unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen BMI-SDS und Geschlecht.
- Abbildung 4 Darstellung des Zusammenhangs zwischen AST (Aspartat-Aminotransferase) und Alter unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen Alter und Pubertätsstatus.
- Abbildung 5 Darstellung des Zusammenhangs zwischen AST (Aspartat-Aminotransferase) und BMI-SDS unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen BMI-SDS und Geschlecht.
- Abbildung 6 Darstellung des Zusammenhangs zwischen GGT (Gamma-Glutamyltransferase) und Alter unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen Alter und Pubertätsstatus.
- Abbildung 7 Darstellung des Zusammenhangs zwischen GGT (Gamma-Glutamyltransferase) und BMI-SDS unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen BMI-SDS und Geschlecht.

III Tabellenverzeichnis

In: 3 Fragestellungen und Hypothesen

Tabelle 1 Darstellung der Hypothesen zu den Fragestellungen 1 - 3.

In: IV.B Ergänzungsmaterial zur wissenschaftlichen Publikation

Tabelle 1 Liste potenziell hepatotoxischer Medikamente.

Tabelle 2a BMI-Verteilung in der LIFE CHILD-Studienpopulation.

Tabelle 2b Charakteristika der LIFE CHILD-Referenzpopulation.

Tabelle 3 Referenzwerte der ALT-Perzentilen als Funktion von Alter und Geschlecht.

Tabelle 4 Referenzwerte der AST-Perzentilen als Funktion von Alter und Geschlecht.

Tabelle 5 Referenzwerte der GGT-Perzentilen als Funktion von Alter und Geschlecht.

Tabelle 6 Eine Auswahl publizierter pädiatrischer Referenzwerte für ALT, AST und GGT.

1 Vorbemerkungen

1.1 Vorbemerkungen zum Studienprojekt

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Erstellung neuer alters- und geschlechtsspezifischer Perzentilen für die Leberenzyme Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST) und Gamma-Glutamyltransferase (GGT) im Kindes- und Jugendalter. Darüber hinaus werden Einflussfaktoren auf deren Serumkonzentrationen analysiert und das Risiko einer Leberfibrose bei Vorliegen erhöhter ALT-Serumkonzentrationen untersucht. Die folgenden Kapitel geben zunächst einen Überblick über die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD), die in der Kinder- und Jugendmedizin den häufigsten Grund für eine Transaminasenerhöhung darstellt [1, 2]. Der Schwerpunkt der „Einführung in die Thematik“ liegt auf dem Screening und der Diagnostik von NAFLD. Die Bedeutung von ALT, AST und GGT im Kindes- und Jugendalter wird herausgestellt indem wichtige Charakteristika und Assoziationen der Transaminasen aufgezeigt werden und deren Rolle in Screening und Diagnostik von NAFLD kritisch beleuchtet wird. Anschließend werden Anforderungen für die Erstellung qualitativ hochwertiger pädiatrischer Referenzwerte vorgestellt und die aktuelle Datenlage zu ALT, AST und GGT diesbezüglich analysiert. Auf Grundlage dieser Darstellungen werden die Ziel- und Fragestellungen sowie die Hypothesen der Studie definiert und die Ergebnisse diskutiert.

1.2 Vorbemerkungen zu LIFE CHILD

Dieses Studienprojekt entstand im Rahmen von LIFE CHILD (Leipziger Forschungszentrum für Zivilisationserkrankungen). LIFE CHILD-Studien beschäftigen sich mit der Erforschung von Mechanismen und Mediatoren, die Gesundheit und Entwicklung von Kindern und Jugendlichen in der heutigen Gesellschaft beeinflussen [3, 4]. Es handelt sich hierbei um eine prospektive Kohortenstudie, die jedem Kind und Jugendlichen im Großraum Leipzig die Möglichkeit zur Teilnahme bietet und auf freiwilliger Basis operiert [3, 4]. Im Zeitraum zwischen Dezember 2011 und Juli 2015 wurden bereits über 4500 Kinder und Jugendliche rekrutiert. Während jedes Aufenthaltes in der Studienambulanz werden Sets aus demographischen, anthropometrischen und biologischen Daten erhoben und standardisierte Fragebögen ausgefüllt [3, 4]. Alle Daten werden nach dem deutschen Datenschutzgesetz pseudorandomisiert [3, 4]. Die Studie wurde gemäß der Deklaration von Helsinki konzipiert und unter der Nummer NCT02550236 registriert. Die Prüfung und Bewilligung des Studienprotokolls erfolgte durch das Ethikkomitee der Universität Leipzig (Registrierungsnummer 264-10-19042010) [4, 5].

2 Einführung in die Thematik

2.1 Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung im Kindes- und Jugendalter

Während der letzten 20 Jahre nahm der Anteil übergewichtiger und adipöser Kinder und Jugendlicher in den meisten Industrienationen signifikant zu [6]. Adipositas ist einer der Hauptrisikofaktoren für kardiovaskuläre- und metabolische Erkrankungen mit schwerwiegenden Endorganschäden [7]. Es besteht eine enge Assoziation zwischen Adipositas und dem Auftreten arterieller Hypertonie, Dyslipidämie, Hyperinsulinämie und Typ 2 Diabetes mellitus [7]. Die Verknüpfung dieser vier Krankheitsentitäten (Übergewicht/Adipositas, arterielle Hypertonie, Dyslipidämie, Hyperinsulinämie/Typ 2 Diabetes mellitus) wird häufig unter dem Begriff „Metabolisches Syndrom“ (MetS) zusammengefasst [7]. Das MetS ist mit einer erhöhten Gesamtmortalität assoziiert und kann bereits im Kindes- und Jugendalter identifiziert werden [8, 9]. Neben diesen vier „Hauptkomponenten“ werden Hyperurikämie, Schlafstörungen und insbesondere die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) als weitere Komponenten des MetS diskutiert [7]. Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung soll im Folgenden weiter beleuchtet werden.

2.1.1 NAFLD: Definition, Epidemiologie und klinisches Erscheinungsbild

Parallel zu der Zunahme von Übergewicht und Adipositas im Kindes- und Jugendalter, konnte ein Anstieg der NAFLD-Prävalenz beobachtet werden [10, 11]. NAFLD wird häufig als hepatische Manifestation des MetS bezeichnet [2, 12, 13]. Sie ist definiert durch Lipidinfiltration in über 5 % der Hepatozyten in Abwesenheit von übermäßigem Alkoholkonsum oder viralem-, autoimmunem-, drogen- oder medikamenteninduziertem Leberschaden [2, 12, 13]. Es handelt sich demnach um eine Ausschlussdiagnose [14]. Der Begriff „nicht-alkoholische Fettlebererkrankung“ fungiert als Oberbegriff und umfasst ein breites Spektrum histologisch beschriebener Leberläsionen [15]. Dieses spannt einen Rahmen von der potenziell reversiblen Steatosis hepatis ohne nekroinflammatorischen Zellschaden (NAFL = non-alcoholic fatty liver) über die pädiatrische NASH (non-alcoholic steatohepatitis, Steatosis mit Inflammation und hepatozytärer Ballonierung) und NAFLD (NAFL oder NASH) mit Fibrose, bis hin zu NAFLD mit Leberzirrhose und deren Komplikationen [15]. NASH kann mit oder ohne Kollagenablagerung und nachfolgender Narbenbildung (Leberfibrose und -zirrhose) auftreten und stellt einen Risikofaktor für die Entstehung hepatozellulärer Karzinome dar [16, 17].

NAFLD, deren Prävalenz sich in den letzten 20 Jahren mehr als verdoppelte, gilt als die häufigste Lebererkrankung im Kindes- und Jugendalter [18, 19]. Prävalenzangaben weisen allerdings studienabhängig deutliche Schwankungen auf [20]. In einer systematischen Übersichtsarbeit verglichen Anderson et al. NAFLD-Prävalenzen aus unterschiedlichen Studien für Kinder und

Jugendliche zwischen ein und 18 Jahren [20]. Die gemittelte Prävalenz in der Allgemeinbevölkerung betrug dabei 7,6 % (95 %-Konfidenzintervall: 5,5 % bis 10,3 %, $N_{\text{Studien}} = 20$) [20]. Eine deutlich höhere mittlere Prävalenz von 34,2 % (95 %-Konfidenzintervall: 27,8 % bis 41,2 %, $N_{\text{Studien}} = 56$) zeigte sich für klinischen Studienpopulationen mit adipösen Kindern und Jugendlichen [20]. Die NAFLD-Prävalenz ist zudem abhängig von Alter, Geschlecht und Ethnizität der Studienteilnehmer*innen sowie der verwendeten Untersuchungsmethode [20]. Die Diagnose wird typischerweise zwischen dem zehnten und 13. Lebensjahr gestellt; der Zeitpunkt des eigentlichen Beginns der Erkrankung ist jedoch meist unbekannt [21]. Jungen erkranken etwa doppelt so häufig an NAFLD wie Mädchen, was möglicherweise durch die leberprotektive Rolle von Östrogenen erklärt werden könnte [11, 20]. Bei Erwachsenen konnten signifikante ethnizitätsspezifische Unterschiede in der NAFLD-Prävalenz gefunden werden [22]. Die höchste Prävalenz zeigte sich bei „Amerikanern hispanischer Abstammung“, gefolgt von „Kauasiern“ (Bezeichnung aus dem angelsächsischen Sprachraum) und „Afroamerikanern“ [22]. Diese Differenzen waren nicht vollständig durch Unterschiede des BMIs, des Ausmaßes der Insulinresistenz (IR) und des Alkoholkonsums oder durch Medikamenteneinnahme erklärbar [22]. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch in pädiatrischen Populationen beschrieben [16, 22–24]. Trotz studienabhängiger Prävalenzunterschiede für NAFLD wird diese Erkrankung weltweit als die häufigste zugrundeliegende Ursache für chronisch-erhöhte ALT-Serumkonzentrationen angesehen, noch vor viralen Hepatiden und der „alkoholischen Fettlebererkrankung“ [1, 2].

Das auffälligste klinische Merkmal der NAFLD ist das Fehlen klinischer Merkmale [23]. Häufig sind Patient*innen, trotz erheblichen Leberzellschadens, bei Diagnosestellung symptomlos [23]. Die Verdachtsdiagnose ergibt sich initial deshalb oft durch Zufallsbefunde in Bluttests oder Ultraschalluntersuchungen [23]. In einigen Fällen kann NAFLD allerdings auch leberdysfunktionstypische Symptome wie Fatigue, Malaise, dumpfen Schmerz oder Unbehagen im rechten oberen Quadranten des Abdomens oder einen milden Sklerenikterus hervorrufen [23]. Eine NASH kann die Leberfunktion massiv einschränken und zu Leberzirrhose, Leberversagen und hepatozellulären Karzinomen führen [15, 23, 25]. NAFLD ist eine komplexe Erkrankung, die zu erhöhter Morbidität mit möglichen Komplikationen in multiplen Organsystemen führen kann [21]. Betroffen sein können unter anderem das hepatische, kardiovaskuläre, pulmonale und metabolische System; aber auch die psychosoziale Gesundheit kann beeinträchtigt werden [21]. Die Studienlage zur Mortalität von NAFLD mit Beginn im Kindes- oder Jugendalter ist dünn. In einer Studie von Feldstein et al. wird allerdings von einem 13,6-fach höheren Sterblichkeitsrisiko für Kinder mit NAFLD berichtet im Vergleich zur normalen Lebenserwartung der nordamerikanischen Bevölkerung [21, 26, 27].

2.1.2 NAFLD: Histologie und Pathogenese

Obwohl NAFLD weit verbreitet ist, tritt nur bei einer kleinen Minderheit der Betroffenen eine Progression der Erkrankung ein [15]. Bei den meisten Patient*innen kommt es lediglich zur Ausprägung einer Leberverfettung (NAFL) [15]. In einer randomisiert-kontrollierten Studie zur Untersuchung des natürlichen Verlaufs von NAFLD im Kindesalter wurde innerhalb von zwei Jahren lediglich bei 25 % der Proband*innen eine Progression der Erkrankung beobachtet [15]. In 12 % der Fälle lag bei Kindern eine vergleichbare histologische Erscheinungsform wie bei Erwachsenen vor [17]. NASH-Lebern von Kindern und Jugendlichen weisen weniger lobuläre, dafür vermehrt portale entzündliche Veränderungen auf sowie eher periportale und weniger perisinusoidale, intraazinäre Fibrose [17]. Diese histologischen Besonderheiten könnten die frühzeitige Progression des NAFLD-Scores bei Kindern und Jugendlichen im Vergleich zu Erwachsenen erklären und auf potenziell unterschiedliche zugrunde liegende Pathomechanismen hinweisen [17]. Die Pathomechanismen für die Entwicklung von NAFLD und die Progression von NAFL zu NASH, Leberfibrose oder -zirrhose sind noch nicht vollständig verstanden, eine starke Assoziation mit Adipositas und IR ist allerdings beschrieben [16, 28]. Die sogenannte „two-hit-Hypothese“ („zwei Schläge“) wurde mittlerweile, zugunsten der „multiple-hit-Hypothese“ („vielfältige Schläge“) verlassen [28]. Einerseits konnten bestimmte molekulare und metabolische Veränderungen in NAFLD nur unzureichend durch „two-hits“ („zwei Schläge“) erklärt werden, andererseits zwang die Entdeckung neuer Einflussfaktoren wie das Darmmikrobiom oder Genvarianten des Lipid- und Kohlenhydratstoffwechsels Wissenschaftler*innen zu einem Umdenken in der Pathogenese von NAFLD [16, 28, 29].

Die „two-hit-Hypothese“ ging von einer Leberverfettung („erster Schlag“) aus, charakterisiert durch hepatische Triglyceridakkumulation und IR, die die Suszeptibilität der Leber für weitere Zellschädigung („zweiter Schlag“) erhöht [7, 16, 29]. Dies kann schließlich bei anhaltender oder rezidivierender Schädigung zu Steatohepatitis, Leberfibrose und -zirrhose führen [17]. Das „multiple-hit-Modell“ geht hingegen von komplexeren Pathomechanismen der metabolischen Dysfunktionen aus mit zahlreichen Interaktionen auf unterschiedlichen Ebenen [16, 28]. Zusätzlich zur Triglyceridakkumulation in der Leber, die nach wie vor den „ersten Schlag“ darzustellen scheint, spielen IR und oxidativer Stress eine kritische Rolle bei der Entwicklung höhergradiger Inflammation und Fibrose (NASH) [16, 28, 30]. Der Ausprägungsgrad der IR und des oxidativen Stresses wird durch verschiedene Faktoren moduliert; zum Beispiel durch (epi)genetische Prädisposition, einen ungünstigen Lebensstil, Dysfunktionen der Darm-Leber-Achse und des Mikrobioms oder Störungen der Homöostase von Spurenelementen [16, 28, 30].

2.1.3 NAFLD: Screening und Diagnostik

Die „North American Society For Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition“ (NASPGHAN) und die „European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition“ (ESPGHAN) sprechen sich in ihren Leitlinien für ein umfassendes NAFLD-Screening und Follow-up-Verfahren für Risikogruppen aus [13, 15]. Diese Empfehlung wird begründet durch die hohe Prävalenz von NAFLD in Risikogruppen, die Möglichkeit, die Erkrankung bereits in einem asymptomatischen Stadium und vor Beginn irreversibler Leberschäden detektieren zu können und das Vorhandensein einer effektiven Behandlungsmöglichkeit in Form von Gewichtsreduktion [13, 15, 31]. Derzeit bestehen jedoch Uneinigkeiten über die effektivste Durchführung eines NAFLD-Screenings [31]. Diskussionspunkte stellen die Auswahl des Patientenkollektivs, der passende Screening-Zeitpunkt, die Screeninghäufigkeit sowie die Screening-Methoden dar [31]. Einigung wird unter anderem durch das Fehlen hoch-akkuratere Screeninginstrumente, das begrenzte Wissen über den natürlichen Verlauf der Erkrankung sowie die mangelnde Datengrundlage zur Kosteneffizienz eines Screenings erschwert [31]. Durch die NASPGHAN und ESPGHAN wird ein Screening- und Follow-up-Algorithmus zur Verfügung gestellt, der im Folgenden zusammenfassend erläutert wird [13, 15].

2.1.3.1 NAFLD-Screening

Die aktuell empfohlene Screeningmethode ist, trotz substanzieller Limitationen, die Messung der ALT-Serumkonzentration [15]. Diese ist mit einem kostengünstigen, universell verfügbaren, minimal-invasiven Bluttest bestimmbar und verfügt über eine akzeptable Sensitivität [15]. Das entsprechende Testverfahren ist standardisiert, nicht jedoch die Referenz- und Grenzwerte der Transaminase [15]. Die NASPGHAN empfiehlt bei der Interpretation von ALT-Serumkonzentrationen die Verwendung geschlechtsspezifischer und standardisierter Referenzwerte (22 U/L für Mädchen und 26 U/L für Jungen) [15]. Bei ALT-Serumkonzentrationen über 80 U/L soll eine zeitnahe Ursachensuche für diese Erhöhung angeschlossen werden [15]. Besteht eine ALT-Erhöhung über drei Monate, so müssen NAFLD in Betracht gezogen und andere Ursachen ausgeschlossen werden [15]. Die klinisch routinemäßig-verfügbare Abdomensonographie ist als Screeningmaßnahme nicht empfohlen, da sie, insbesondere bei Kindern mit niedriggradiger Leberverfettung, eine schlechte Performance in der Detektion von NAFLD aufweist [15]. Darüber hinaus bestehen Ungenauigkeiten in der Quantifizierung der Steatosis hepatis und teils erhebliche Interuntersucher-Variabilität [15, 31, 32]. Magnetresonanztomographie (MRT) und Magnetresonanzspektroskopie (MRS) sind gut validierte Verfahren, die eine hohe Genauigkeit bei der Detektion und Quantifizierung

steatotisch veränderter Lebern aufweisen [15]. Aufgrund hoher Kosten, fehlender flächendeckender Verfügbarkeit und Mangel an validierten Referenzwerten, werden diese Verfahren jedoch noch nicht routinemäßig zum Screening eingesetzt [15]. Um die Rate falsch-positiver Testergebnisse zu minimieren und das Screening zu ökonomisieren, sollen nur Individuen mit einem bestimmten Risikoprofil für NAFLD gescreeent werden [13, 15]. Dies umfasst alle adipösen Kinder ($\text{BMI} \geq 95\text{te Perzentile}$) zwischen neun und elf Jahren sowie übergewichtige Kinder ($\text{BMI} \geq 85\text{ten}$ und $< 95\text{ten Perzentile}$) mit zusätzlichen Risikofaktoren wie zentraler Adipositas, IR, Prädiabetes oder Typ 2 Diabetes mellitus, Dyslipidämie, obstruktiven Schlafapnoesyndrom oder einer positiven Familienanamnese für NAFLD oder NASH [15].

Zusammenfassend existiert für Kinder und Jugendliche mit einem bestimmten Risikoprofil die Empfehlung ein NAFLD-Screening durchzuführen. Die Bestimmung der ALT-Serumkonzentration ist hierfür trotz einiger Limitationen von zentraler Bedeutung.

2.1.3.2 NAFLD-Diagnostik

Besteht bei einem Kind oder Jugendlichen der Verdacht einer NAFLD, so müssen zunächst alternative Ursachen für eine persistierende ALT-Erhöhung (zum Beispiel Hepatitis B und C, Morbus Wilson oder Autoimmunhepatitiden) ausgeschlossen werden [15, 17]. Die Leberbiopsie stellt nach wie vor den Goldstandard der Diagnostik und Graduierung des Schweregrades der NAFLD dar und sollte bei Kindern und Jugendlichen mit einem erhöhten Risiko für NASH oder fortgeschrittener Fibrose erwogen werden [13, 15]. Gleichzeitig kann diese Biopsie zum Ausschluss anderer Lebererkrankungen dienen [14, 15]. Die histologische Beschreibung der Verfettung, der entzündlichen Veränderungen und der hepatozytären Schädigungszeichen kann semiquantitativ mithilfe des „Brunt Scores“ oder „NAFLD Activity Scores“ zusammengefasst werden [17]. Diese stellen die Basis der Beurteilung einer Steatohepatitis dar [17]. Darüber hinaus sollte eine Stadieneinteilung des Fibrosegrades erfolgen [17].

Die Durchführung von Leberbiopsien in einer gesunden Kohorte ist aufgrund der Invasivität weder ethisch noch praktisch vertretbar [33]. Deshalb werden zunehmend nicht-invasive Methoden entwickelt und getestet, die Kliniker*innen helfen sollen, Risikopatient*innen für eine NAFLD-Leberfibrose frühzeitig zu entdecken [15, 33]. Im Vergleich zum Goldstandard erwiesen sich die propagierten Surrogatmarker und Scores jedoch bisher als nicht ausreichend akkurat, klinisch hilfreich oder zufriedenstellend validiert [15].

Leberfibrose-Scores (AST/ALT, AST/Thrombozyten Ratio Index, NAFLD Fibrose Score und der FIB-4 Index), die das Vorhandensein einer fortgeschrittenen Leberfibrose vorhersagen, sind für Erwachsene validiert [33]. Doch Alkhoury et al. konnten zeigen, dass diese nur eine unzureichende Aussagekraft bei Kindern und Jugendlichen besitzen, weshalb der „Pediatric

NAFLD Fibrosis Score (PNFS) und Index (PNFI)“ entwickelt wurde [33]. Mit dem *PNFS*: $z = 1,1 + (0,34 * \sqrt{ALT}) + (0,002 * \text{Alkalische Phosphatase}) - (1,1 * \log(-\text{Thrombozyten})) - (0,02 * GGT)$ und dem von den Autoren empfohlenen Grenzwert von 8 %, können Kinder und Jugendliche mit einer fortgeschrittenen Leberfibrose (Fibrosegrad ≥ 3) mit einer Sensitivität von 97 % und einer Spezifität von 33 % identifiziert werden [33]. Einen noch stärkeren Zusammenhang mit dem Fibrosegrad wies die Kombination aus PNFI und „Enhanced Liver Fibrosis Score“ (ELF) auf [34]. Alkhouri et al. konnten in ihrer Studie mithilfe dieser Kombination bei 86,4 % der Kinder und Jugendlichen mit NAFLD, das Vorhandensein einer Leberfibrose zuverlässig detektieren [15, 33, 34]. PNFS und PNFI/ELF stellen vielversprechende Instrumente dar, die jedoch noch weiterer Validierung bedürfen [15].

Bildgebende Verfahren wie Ultraschall oder Computertomographie sind aktuell nicht zur Diagnosestellung oder Einschätzung der Quantität der Steatosis empfohlen [15]. Der Einsatz von Sonographie kann aber zum Ausschluss anderer Lebererkrankungen hilfreich sein [15]. Große Hoffnungen liegen auf der MRT und MRS, die Leberverfettung hochakkurat einschätzen können [15]. „Transiente Elastographie“, „Magnetresonanz Elastographie“ und die „Acoustic Radiation Force Impact Technologie“ stellen vielversprechende bildgebende Verfahren zum Assessment einer Leberfibrose dar [15]. Auch für diese sind jedoch weitere Studien zur Validierung pädiatrischer Grenzwerte erforderlich [15].

Schlussfolgerung: Die Leberbiopsie stellt nach wie vor den Goldstandard der NAFLD-Diagnostik dar. Nicht-invasive Methoden wie Bildgebung und Fibrose-Scores werden jedoch ständig weiterentwickelt. Vielversprechende Diagnostika zur Beurteilung des Fibrosegrades im Kindes- und Jugendalter sind insbesondere der PNFS und die Kombination aus PNFI und ELF.

2.2 Die Bedeutung der Transaminasen ALT, AST und GGT im Kindes- und Jugendalter

Die Transaminasen ALT und AST werden am häufigsten bei Verdacht eines Leberzellschadens bestimmt [35, 36]. Die zusätzliche Untersuchung der GGT kann Kliniker*innen helfen zwischen einem prädominiert hepatozellulären oder cholestatischen Zellschaden zu differenzieren [35, 36]. Die Alkalische Phosphatase (AP) wird ebenfalls häufig in diesem Zusammenhang bestimmt und kann bei Erhöhung, wie GGT, auf eine cholestatische Komponente des Zellschadens hinweisen [36]. In der vorliegenden Studie wurde sich allerdings aufgrund der geringen Leberspezifität der AP gegen einen Einschluss entschieden [37]. Das Knochengewebe stellt einen der Hauptexpressionsorte der AP dar [37]. Somit weisen Kinder und Jugendliche im Wachstum grundsätzlich höhere AP-Konzentrationen auf, die jedoch nicht zwangsläufig Ausdruck einer Pathologie sein müssen [38]. Aufgrund dieses Zusammenhangs ist es empfehlenswert die AP im Kontext anderer Metaboliten des Knochenstoffwechsels zu analysieren.

Die folgenden Kapitel stellen die drei ausgewählten Transaminasen vor, zeigen wichtige Assoziationen auf und beschreiben die Rollen, die ALT, AST und GGT in Screening und Diagnostik von NAFLD einnehmen. Dadurch soll die Bedeutung der drei Transaminasen für die Kinder- und Jugendmedizin herausgestellt werden.

2.2.1 Charakteristika und Assoziationen der Transaminasen ALT, AST und GGT

2.2.1.1 Charakteristika von ALT, AST und GGT

Alanin-Aminotransferase

Das Enzym Alanin-Aminotransferase (früher Glutamat-Pyruvat-Transaminase) katalysiert die Reaktion: L-Alanin + α -Ketoglutarat \rightarrow Pyruvat + L-Glutamat und spielt damit eine wichtige Rolle im Glukose-Alanin-Stoffwechsel [35, 39]. ALT ist vorwiegend im Zytoplasma von Hepatozyten lokalisiert und gilt als die leberspezifischste Transaminase (IV.A, Abb. 2) [1, 35]. Liu et al. beschreiben einige physiologische Einflüsse auf die ALT-Serumkonzentration [39]. So zeigte sich in Patient*innen mit chronischen Lebererkrankungen eine zirkadiane Rhythmik der ALT mit einem Nadir um vier Uhr und einem Höchstwert um 16 Uhr [39]. Darüber hinaus ist bekannt, dass starke körperliche Anstrengung zu einem vorübergehenden ALT-Anstieg führt [39].

Aspartat-Aminotransferase

Das Enzym Aspartat-Aminotransferase (früher Glutamat-Oxalacetat-Transaminase) katalysiert die Übertragung der L-Aminogruppe einer Aminosäure auf eine α -Ketosäure und damit beispielsweise die Umwandlung von α -Ketoglutarat in die Aminosäure Glutaminsäure [35]. Ohne diesen Reaktionsschritt wäre das Malat-Aspartat-Shuttle und damit die Kohlenhydratverwertung in Eukaryoten unmöglich [40]. Zudem stellt dies eine essenzielle

Reaktion für den Abbau mehrerer Aminosäuren dar [40]. Im Menschen wird AST vor allem in Skelettmuskulatur, Herzmuskulatur, Nieren, Gehirn, Erythrozyten und der Leber exprimiert. Man unterscheidet eine zytoplasmatische und einer mitochondriale Isoform. 80 % der AST der Leber sind in Mitochondrien lokalisiert, 20 % im Zytoplasma (IV.A, Abb. 2) [35, 40].

Gamma-Glutamyltransferase

Die Gamma-Glutamyltransferasen sind eine Gruppe von Enzymen, die an der Abwehr reaktiver Sauerstoffspezies und an der Ausschleusung von Fremdstoffen aus dem Körper beteiligt sind. Sie katalysieren die Übertragung eines Glutamylrestes von Glutathion auf Peptide oder Wasser [41]. Es existieren mindestens 13 Gene für GGT, von denen mindestens sechs katalytisch aktiv sind, mit jeweils mehreren Isoformen [41]. Das gut charakterisierte GGT-1 ist ein extrazelluläres Enzym, das in Plasmamembranen von Zellen verankert ist (IV.A, Abb. 2) [41]. Vorwiegend ist es an Zellmembranen von Hepatozyten und Gallengangszellen lokalisiert, wird aber auch in Niere, Pankreas, Milz, Herz und Gehirn exprimiert [41]. Erhöhte Serumkonzentrationen weisen insbesondere auf Erkrankungen des biliären Systems hin, wie die extrahepatische biliäre Atresie, die sklerosierende Cholangitis oder die progressive familiäre intrahepatische Cholestase Typ 3 [42]. Die klinische Aussagekraft erhöhter GGT-Serumkonzentrationen ist aufgrund der geringen Spezifität für hepatobiliäre Erkrankungen limitiert [43].

2.2.1.2 Assoziationen von ALT, AST und GGT

Alanin-Aminotransferase

Ein häufig untersuchter Zusammenhang ist die Assoziation der ALT mit dem Alter. Die meisten Autor*innen stimmen darin überein, dass Alter einen deutlichen Einfluss auf ALT ausübt [44–51]. Die Polarität der Assoziation im Kindes- und Jugendalter unterscheidet sich jedoch je nach Studie erheblich. Während einige Autor*innen [44, 48, 52] positive Zusammenhänge zwischen Alter und ALT beschreiben, weisen andere Studien negative Assoziationen [49, 50, 53] oder einen u-förmigen Verlauf mit dem Alter auf [47]. Bei Erwachsenen gibt es Hinweise, dass die ALT-Serumkonzentration ab einem bestimmten Alter (30 oder 44 – 50 Jahre) abnimmt [45, 46]. Geschlechtsunterschiede mit höheren ALT-Serumkonzentrationen bei Jungen im Vergleich zu Mädchen werden in den meisten Studien beschrieben [44, 47, 50, 51, 54, 55]. Diese Geschlechtsunterschiede zeigten sich häufig erst im Jugendalter oder nahmen in diesem Zeitraum an Signifikanz zu [44, 47, 48, 51, 52]. Der Zusammenhang mit dem Pubertätsstatus ist bisher kaum untersucht worden, insbesondere detaillierte Betrachtungen bezüglich der einzelnen Tanner Stadien fehlen [56, 57]. Lediglich Zierk et al. zeigten, dass Mädchen nach der Pubertät niedrigere ALT- und AST-Konzentrationen aufweisen [47]. Bei Jugendlichen, die an NAFLD

leiden, gibt es Hinweise, dass die Pubertät einen Einfluss auf den Grad der Ausprägung histologischer Veränderungen hat; für den Einfluss der Pubertät auf Transaminasen besteht jedoch noch Forschungsbedarf [58]. In zahlreichen Studien wurde eine signifikante Beziehung zwischen dem BMI und ALT beschrieben [51, 54, 59–61]. Bei Patel et al. stellte sich der BMI sogar als unabhängiger Hauptprädiktor von ALT heraus [51]. In einer chinesischen Untersuchung zeigte sich ab einem BMI von 20,5 kg/m² ein linearer Zusammenhang zwischen ALT und dem BMI mit einer Zunahme von 2,71 U/L (ALT) pro 1 kg/m² (BMI) [59]. Laut Patel et al. stellt die Ethnizität im Kindesalter einen unabhängigen Prädiktor für ALT dar [51]. In anderen Studien ist die Aussagekraft über die Ethnizität häufig eingeschränkt, da diese nicht unabhängig, sondern im Zusammenhang mit NAFLD oder MetS betrachtet wurde [39]. Weitere Assoziationen bestehen mit Markern für Hauptkomponenten des MetS, zum Beispiel mit dem HOMA-IR (Homeostasis Modell Assessment Test-Insulinresistenz), dem Nüchterninsulin, dem HDL-Cholesterin (High-Density-Lipoprotein-Cholesterin) oder dem Taillenumfang [51, 62].

Aspartat-Aminotransferase

Eine kontinuierliche Abnahme der AST-Serumkonzentration mit dem Alter zeigte sich bei Li et al, Estey et al. und Zierk et al. [47, 49, 52]. Im Gegensatz dazu präsentierten Dehghani et al. eine Zunahme mit dem Alter [48]. Geschlechtsunterschiede mit höheren Serumkonzentrationen bei Jungen wurden von allen erwähnten Autor*innen beschrieben [47–49, 52]. Dieser Unterschied nimmt im Jugendalter zu und ist im Vergleich zu ALT und GGT schwächer ausgeprägt [47–49, 52]. Anders als für ALT und GGT beschreiben mehrere Studien für AST keine oder lediglich schwache Zusammenhänge mit Komponenten des MetS [62, 63]. Leichte AST-Erhöhungen sind mit NAFLD assoziiert, mit zunehmendem Leberzellschaden kann die AST-Serumkonzentration jedoch auch stark ansteigen [64].

Gamma-Glutamyltransferase

Ähnlich wie bei ALT konnte gezeigt werden, dass GGT-Serumkonzentrationen positiv mit dem Alter assoziiert sind [52, 65]. Laut Botton et al. existiert ab Pubertätsbeginn ein signifikanter Geschlechtsunterschied zwischen Jungen und Mädchen (Jungen > Mädchen) [66]. GGT zeigt eine starke Assoziationen mit dem BMI und anderen anthropometrischen Faktoren für Übergewicht und Adipositas wie Taillenumfang oder Hautfaldendicke [65–67]. GGT ist signifikant mit dem MetS und dessen einzelnen Komponenten (repräsentiert durch HDL-Cholesterin, arterieller Hypertonie, Nüchternblutzucker oder HOMA-IR) sowie dem Vorhandensein von NAFLD assoziiert [62, 63, 65, 68]. Bei Erwachsenen ist GGT als unabhängiger Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen bekannt [68–70]. Bei adipösen

Kindern und Jugendlichen gibt es Hinweise, dass dieser Zusammenhang ebenfalls bestehen könnte, jedoch geringer ausgeprägt [68].

2.2.2 Die Rolle von ALT, AST und GGT in Screening und Diagnostik von NAFLD

ALT, AST und GGT haben in der Kinder- und Jugendmedizin große Bedeutung für das Assessment von Lebererkrankungen [15]. Im folgenden Kapitel wird die Rolle der drei Transaminasen in Screening und Diagnostik der häufigsten Lebererkrankung im Kindes- und Jugendalter (NAFLD) zusammengefasst [19].

Alanin-Aminotransferase

Wie bereits im Kapitel „2.1.3.1 NAFLD-Screening“ beschrieben, ist ALT zum NAFLD-Screening bei adipösen Kindern und Jugendlichen empfohlen [13, 15]. Bei übergewichtigen und adipösen Kindern kann die Diagnose NAFLD mit einer Sensitivität von 88 % und einer Spezifität von 26 % gestellt werden, wenn der ALT-Grenzwert 50 U/L bei Jungen und 44 U/L bei Mädchen beträgt [55, 71]. NASH ist häufiger bei Kindern mit ALT-Serumkonzentrationen über 80 U/L zu finden [15]. Eine persistierend (> drei Monate) erhöhte ALT-Serumkonzentration über das doppelte des Grenzwertes legt den Verdacht einer Lebererkrankung wie NAFLD nahe und sollte zur Einleitung diagnostischer Schritte führen [15]. An der Nutzung von ALT als Screeningparameter wird kritisiert, dass der Grad der ALT-Erhöhung nicht mit dem Vorhandensein von NAFLD oder seinem histologischen Schweregrad assoziiert sein muss und, dass auch Kinder mit normalen oder nur minimal erhöhten ALT-Serumkonzentrationen bereits fortgeschrittene Fibrosezeichen in Leberbiopsien aufweisen können [13, 72]. Ein weiterer Kritikpunkt sind die studienabhängig erheblich schwankenden Referenz- und Grenzwerte für ALT im Kindes- und Jugendalter [15]. Die ESPGHAN empfiehlt ALT trotz dieser Einschränkungen als Screeningparameter für NAFLD, fordert allerdings eine Kombination mit anderen Methoden [13, 31].

Aspartat-Aminotransferase und Gamma-Glutamyltransferase

Im Vergleich zu ALT gibt es für AST und GGT deutlich weniger Studien, die diese Transaminasen als unabhängigen Screeningparameter für NAFLD bei Kindern und Jugendlichen untersucht haben.

Die Sensitivität und Spezifität von AST ist zu gering, um das Vorhandensein von NAFLD verlässlich anzuzeigen [73]. Ist AST erhöht bei gleichzeitig erhöhten ALT- und GGT-Werten spricht dies jedoch für ein schwerwiegenderes histologisches Krankheitsbild [13, 15]. AST spielt insbesondere bei der Beurteilung des Schweregrades der Leberfibrose eine wichtige Rolle [74]. So spricht ein erhöhtes AST/ALT-Verhältnis für eine weiter fortgeschrittene und schwerwiegendere Ausprägung des Krankheitsbildes [2, 64]. AST ist außerdem Teil zahlreicher nicht-invasiver Fibrose-Scores (FibroTest, NashTest, PNFS, FibroMeter und FIB4-Index) [74].

Darüber hinaus ist das Enzym Bestandteil des „Aspartate-Aminotransferase-to-platelet ratio index“, der signifikant mit der Intima-Media-Dicke der Carotiden adipöser Jugendlicher assoziiert ist, was für ein ungünstigeres kardiovaskuläres Risikoprofil spricht [75].

GGT ist ein sensitiver aber wenig spezifischer Marker für NAFLD [76]. Ähnlich wie bei AST sind erhöhte GGT-Serumkonzentrationen mit dem Vorhandensein einer fortgeschrittenen Leberfibrose assoziiert [13]. Weder AST noch GGT können jedoch zwischen NASH und einfacher Steatosis hepatis unterscheiden [77]. Die GGT-Bestimmung kann helfen zwischen einem überwiegend hepatozellulärem oder cholestatischen Leberschaden zu differenzieren [13, 15, 36]. Als alleiniger Parameter für das Screening und die Diagnostik von NAFLD ist GGT jedoch nicht geeignet und in diesem Zusammenhang auch nicht von den Leitlinien empfohlen [13, 15, 36, 78]. Schlussfolgerung: Aktuell ist lediglich ALT als Screeningparameter für NAFLD empfohlen [15]. Die Bestimmung von AST und GGT ist insbesondere zur weiteren Einschätzung und im Rahmen differenzialdiagnostischer Abwägungen von Interesse [13]. In der definitiven Diagnostik von NAFLD spielen ALT, AST und GGT aktuell keine entscheidende Rolle [13, 15].

2.3 Pädiatrische Referenzwerte von ALT, AST und GGT

Wissenschaftler*innen und Kliniker*innen stimmen überein, dass die Verfügbarkeit von aktuellen und qualitativ hochwertigen pädiatrischen Referenzwerten für Transaminasen von essenzieller Bedeutung ist, um Ergebnisse aus Leberenzymtests adäquat einschätzen zu können [52]. In den nächsten beiden Kapiteln werden zunächst die Anforderungen an eine standardisierte Referenzwerterstellung im Kindes- und Jugendalter vorgestellt, um dann die Qualität der aktuell vorhandenen Referenz- und Grenzwerte für ALT, AST und GGT diesbezüglich zu analysieren.

2.3.1 Anforderungen an pädiatrische Referenzwerte

Die Gesundheitsversorgung von Kindern und Jugendlichen ist abhängig von der Verfügbarkeit präziser Biomarker und adäquater Referenzintervalle [79]. Referenzwerte aus der Erwachsenenmedizin sind für die Pädiatrie ungeeignet, denn Kinder und Jugendliche unterscheiden sich bezüglich Größe, Organgröße und -reife, Ernährung und metabolischem Status wesentlich von Erwachsenen [52]. Die physiologischen Veränderungen, insbesondere während des Kleinkindalters und der Pubertät, haben einen signifikanten Einfluss auf die Serumkonzentrationen biochemischer Parameter [47, 52, 79]. Aus diesem Grund sollten Laborparameter in der Kinder- und Jugendmedizin immer unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht interpretiert werden [47, 79]. In der Praxis finden Referenzwerttabellen, in Form geschlechtsspezifischer Altersintervalle, Verwendung [47, 80]. In den letzten Jahren geriet diese Methode zunehmend in Kritik, da die Einteilung der Altersintervalle häufig einen scheinbar willkürlichen Charakter aufwies [81]. Derartige Intervalle spiegeln kontinuierliche Veränderungen biologischer Entwicklung nur unzureichend wider [47]. Perzentilen, die in Modellen generiert werden, in denen Parameter kontinuierlich über das Alter geschätzt werden, sind für diesen Zweck besser geeignet [47, 81–83]. Ein abgelesenes Perzentil gibt an, wie viel Prozent der Kinder und Jugendlichen des gleichen Alters und Geschlechts niedrigere beziehungsweise höhere Werte eines Parameters aufweisen und ermöglicht somit die Einordnung eines Individuums im Vergleich zur seiner Referenzpopulation [83].

Um inter- und intraindividuelle Variationen bei Laborparametern zu berücksichtigen, werden in der Regel Referenzintervalle (oberer und unterer Grenzwert) als Hilfestellung bei der klinischen Entscheidungsfindung herangezogen [47]. Als Grenzwerte für pathologische Ausprägungen werden bestimmte Perzentilen aus einer Referenzbevölkerung festgelegt [80, 83, 84]. Meist werden die 2,5/3,0te und die 97,0/97,5te Perzentile als unterer und oberer Grenzwert definiert [79, 80, 83]. Das Referenzintervall umfasst somit die zentralen 94 % beziehungsweise 95 % der Verteilung in einer entsprechenden Referenzpopulation [47, 79, 82]. Dies macht deutlich, dass

der Auswahl der Referenzpopulation eine hohe Bedeutung zukommt. Andere wichtige Einflussfaktoren auf die Qualität von Referenzintervallen sind die Form und Güte der Datenerhebung und die Wahl der statistischen Methode zur Generierung von Perzentilen [80, 83, 84].

Die Erstellung einer repräsentativen Referenzpopulation stellt einen komplexen Prozess dar [81]. Die meisten Studien orientieren sich dabei an den Empfehlungen der regelmäßig, aktualisierten Leitlinie des „Clinical and Laboratory Standards Institutes“ (CLSI) [79, 80, 84].

Referenzintervalle in der Pädiatrie haben grundsätzlich das Ziel die Altersabhängigkeit der Parameter in der Allgemeinbevölkerung darzustellen [81]. Unter Allgemeinbevölkerung versteht man die Gesamtheit aller gesunder Subjekte einer Population [81]. Natürlich ist „gesund“ ein relativer Begriff, dessen Definition sich je nach Zielparameter ändern kann [81]. So hat beispielsweise ein gebrochener Finger keinen Einfluss auf die Körpergröße, möglicherweise aber auf Laborparameter, die mit dem Knochenstoffwechsel in Verbindung stehen [81]. Die Formulierung exakter Ein- und Ausschlusskriterien ist demnach essenziell [81]. Referenzintervalle sollen für die Schlüsselvariablen Alter, Geschlecht, Ethnizität, Pubertätsstatus und weitere relevante Kovariaten (z.B. BMI) stratifiziert werden [84, 85]. Um diesen Anforderungen zu entsprechen, muss eine große Probenanzahl gesunder Individuen der Allgemeinbevölkerung zur Verfügung stehen [47, 84]. Ethische Limitationen zum Beispiel bezüglich der Blutentnahme bei gesunden Kindern, insbesondere bei Neugeborenen oder Säuglingen stellen Herausforderungen in der Akquirierung einer ausreichend großen Probandenzahl dar [47, 84]. Laborparameter sind darüber hinaus teilweise anfällig für Messungenauigkeiten und abhängig von der Wahl der analytischen Methode, was von Estey et al. eindrucksvoll gezeigt werden konnte [49, 81].

Die Empfehlung zur Wahl der statistischen Methode stammt aus der Arbeit mit anthropometrischen Daten. Im Kontext der „Multicentre Growth Reference Study“ untersuchte die WHO (World Health Organisation) 30 Methoden zur Perzentilenerstellung [86]. Dabei wurde die LMS-Methode als am flexibelsten bewertet und für die Erstellung von Perzentilengraphiken für anthropometrische Daten empfohlen [81, 86, 87]. Mittlerweile hat sich die LMS-Methode auch im Bereich der Labormedizin etabliert und gilt als Standard der kontinuierlichen Schätzung pädiatrischer Referenzwerte [80, 82, 88–92]. Im Rahmen der „KiGGS-Studie“ (Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland) des Robert Koch-Instituts wurden in den letzten Jahren bereits große Anstrengungen unternommen, um Lücken in der Verfügbarkeit pädiatrischer Referenzwerte in Deutschland zu schließen [82].

2.3.2 Aktuelle Datenlage: Pädiatrische Referenzwerte von ALT, AST und GGT

Auch für Leberenzyme im Kindes- und Jugendalter wurden in den letzten sieben Jahren verschiedene Studien durchgeführt und Referenzintervalle propagiert. Nicht alle Studiendesigns entsprachen dabei den in „2.3.1“ genannten Anforderungen an pädiatrische Referenzwerterstellung.

Die meisten Studien konzentrierten sich auf Referenzwerte für ALT. 2012 konnten Schwimmer et al. zeigen, dass die bisher in US-amerikanischen Krankenhäusern verwendeten Referenzwerte für ALT zu hoch waren, um chronische Lebererkrankungen im Kindes- und Jugendalter verlässlich zu detektieren [55]. Die von Schwimmer et al. publizierten Referenzwerte (die 95te Perzentile der ALT-Serumkonzentration aus einer normalgewichtigen, metabolisch- und lebergesunden Kohorte zwölf bis 18-jähriger Kinder und Jugendlicher) betrugen 25,8 U/L für Jungen und 22,1 U/L für Mädchen [55]. Diese Serumkonzentrationen wurden seither in vielen Studien als Referenzwerte verwendet [15, 55]. Weitere Referenzintervalle für ALT stammen von Dehghani et al. [48], Estey et al. (CALIPER Kohorte) [49], Zierk et al. [47], Li et al. [52] und England et al. [50]. Die vier erstgenannten Autor*innen veröffentlichten zusätzlich Referenzwerte für AST [47–49, 52]. GGT-Referenzwerte wurden von Estey et al. [49], Zierk et al. [47], Li et al. [52] und dem Robert Koch Institut im Rahmen der „KiGGS-Studie“ [82] publiziert.

Nicht in allen Studien wurde eine gesunde Studienpopulation als Grundlage der Referenzwerterstellung herangezogen [37, 49]. Die Ursprungsländer (Deutschland, USA, Kanada, China, Iran) der Proband*innen waren zudem mannigfaltig, sodass ethnizitätsspezifische Einflüsse auf die propagierten Referenzwerte anzunehmen sind [47–50, 52, 55, 82]. Darüber hinaus wurden nicht alle Referenzwerte entsprechend der CLSI-Leitlinien zur Erstellung einer repräsentativen Referenzpopulation erstellt und mithilfe einer kontinuierlichen Schätzung gemäß der LMS-Methode nach Cole und Green generiert [37, 48, 80, 87]. Zusammenfassend unterscheiden sich die Referenzpopulationen der Studien bezüglich Altersstruktur, BMI, Herkunftsland, Probandenzahl und Ein- beziehungsweise Ausschlusskriterien. Die Verwendung unterschiedlicher biochemischer Assays und statistischer Ansätze stellen weitere Differenzen dar. Die Charakteristika der den propagierten Referenzwerten zugrunde liegenden Studien werden in Tabelle 6 der Anlage IV.B veranschaulicht.

2.4 Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit

ALT, AST und GGT gehören zu dem am häufigsten bestimmten Leberenzymen in der Kinder- und Jugendmedizin [35]. Trotz einiger Limitationen stellt ihre Bestimmung den Standard bei der Evaluation von Lebererkrankungen dar, insbesondere bei Verdacht auf NAFLD [35, 36]. Um Fehldiagnosen zu vermeiden und um Kliniker*innen eine möglichst wahrheitsgetreue Entscheidungsfindung zu ermöglichen, müssen aktuelle Referenzintervalle für ALT, AST und GGT zur Verfügung stehen [52, 79]. Diese Referenzintervalle sollten alters- und geschlechtsspezifisch sein, aus einer gesunden, für den Patienten oder die Patientin repräsentativen Population stammen und mit modernen und leitliniengerechten Methoden generiert worden sein [80]. In Deutschland stehen derartige Referenzwerte aktuell nicht für alle drei Transaminasen zur Verfügung.

Für die Forschung, mehr jedoch für den klinischen Alltag, ist das Wissen über Einflussfaktoren auf Transaminasen relevant [1]. Einige dieser Faktoren wurden, wie in „2.2.1.2“ dargestellt, bereits identifiziert, widersprechen sich jedoch teilweise im Grad der Ausprägung oder der Polarität der Assoziation. Der Einfluss der Pubertät auf die Serumkonzentrationen der drei Transaminasen ist bisher noch unzureichend untersucht. In der Vergangenheit wurden zahlreiche Assoziationsstudien mit ALT durchgeführt, für AST und GGT herrscht jedoch eine schwächere Datenlage vor.

Aus diesen Ausführungen ergeben sich zwei Ziele für die vorliegende wissenschaftliche Arbeit:

1. Die Generierung neuer alters- und geschlechtsspezifischer Perzentilen für ALT, AST und GGT als Referenzwerte für Kinder- und Jugendliche in Leipzig (Deutschland).
2. Die Analyse des Einflusses verschiedener Faktoren (Alter, Geschlecht, Pubertätsstatus und BMI) auf die ALT-, AST- und GGT-Serumkonzentrationen im Kindes- und Jugendalter.

Diese neuen, mithilfe von modernen und standardisierten Methoden erstellten Perzentilen sollen eine gute Grundlage für die Interpretation von Leberenzymen im Kindes- und Jugendalter in Deutschland darstellen und möglicherweise im Screening von NAFLD oder anderer, sich früh manifestierender Lebererkrankungen, Anwendung finden.

3 Fragestellungen und Hypothesen

Aufbauend auf dem bisherigen Forschungsstand sowie den Zielstellungen dieser Arbeit, ergeben sich folgende Fragestellungen und Hypothesen:

Fragestellungen:

1. Bestehen für ALT, AST und GGT im Kindes- und Jugendalter signifikante Assoziationen mit dem Alter und dem Geschlecht?
2. Gibt es einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Pubertätsstatus eines Kindes oder Jugendlichen und der ALT-, AST- oder GGT-Serumkonzentration?
3. Hat der BMI eines Kindes oder Jugendlichen einen signifikanten Einfluss auf die Serumkonzentration von ALT, AST oder GGT?

Die Hypothesen zu den Fragestellungen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1. Darstellung der Hypothesen zu den Fragestellungen 1 - 3.				
	Alter	Geschlecht	Pubertätsstadium (nach Tanner)	BMI
ALT	↑	Jungen > Mädchen	↓	↑
AST	↓	Jungen > Mädchen	↓	↔
GGT	↑	Jungen > Mädchen	↑	↑
ALT = Alanin-Aminotransferase; AST = Aspartat-Aminotransferase; GGT = Gamma-Glutamyltransferase, BMI = Body-Mass-Index.				

4 Publikation

Titel: New Pediatric Percentiles of Liver Enzyme Serum Levels (Alanine Aminotransferase, Aspartate Aminotransferase, γ -Glutamyltransferase): Effects of Age, Sex, Body Mass Index, and Pubertal Stage

In: Hepatology (Baltimore, Md.) 2018 Oct; 68 (4), S. 1319–1330.

DOI: 10.1002/hep.29542.

Manuskript der Publikation:

New Pediatric Percentiles of Liver Enzyme Serum Levels (Alanine Aminotransferase, Aspartate Aminotransferase, γ -Glutamyltransferase): Effects of Age, Sex, Body Mass Index, and Pubertal Stage

Sarah Bussler, Mandy Vogel, Diana Pietzner, Kristian Harms, Theresa Buzek, Melanie Penke, Norman Händel, Antje Körner, Ulrich Baumann, Wieland Kiess, and Gunter Flemming

The present study aims to clarify the effects of sex, age, body mass index (BMI), and puberty on transaminase serum levels in children and adolescents and to provide new age- and sex-related percentiles for alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and γ -glutamyltransferase (GGT). Venous blood and anthropometric data were collected from 4,126 cases. Excluded were cases of participants with potential hepatotoxic medication, with evidence of potential illness at the time of blood sampling and non-normal BMI (BMI <10th or >90th). The resulting data (N = 3,131 cases) were used for the calculations of ALT, AST, and GGT percentiles. Age- and sex-related reference intervals were established by using an LMS method of Cole-type method. Serum levels of transaminases follow age-specific patterns and relate to the onset of puberty. This observation is more pronounced in girls than in boys. ALT percentiles showed similar-shaped patterns in both sexes. Multivariate regression confirmed significant effects of puberty and BMI-SDS ($\beta = 2.21$) on ALT. Surprisingly, AST serum levels were negatively influenced by age ($\beta = -1.42$) and BMI-SDS ($\beta = -0.15$). GGT percentiles revealed significant sex-specific differences, correlated positively with age ($\beta = 0.37$) and showed significant association with BMI-SDS ($\beta = 1.16$). Conclusion: Current reference values of ALT, AST, and GGT serum levels were calculated for children between 11 months and 16.0 years, using modern analytical and statistical methods. This study extends the current knowledge about transaminases by revealing influences of age, sex, BMI, and puberty on serum concentrations of all three parameters and has for these parameters one of the largest sample sizes published so far. (HEPATOLOGY 2017; 68:1319-1330).

The high prevalence of obesity and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) as well as the early onset of other liver diseases require the availability and accuracy of diagnostic instruments for detection of liver damage during early life. Transaminases are usually present in the blood at low levels and an increase in their concentrations may indicate damage of liver cells.⁽¹⁾ Furthermore, hepatic enzyme

Abbreviations: ALP, alkaline phosphatase; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; CALIPER, Canadian Laboratory Initiative in Pediatric Reference Intervals; CRAN, The Comprehensive R Archive Network; GGT, gamma glutamyltransferase; hs-CRP, high-sensitivity C-reactive protein; IR, insulin resistance; KiGGS, nationwide health survey in children and adolescents carried out by the Robert Koch Institute, Germany; LIFE, Leipzig Research Centre for Civilization Diseases; LF, liver fibrosis; LMS/LMSP, LMS method of Cole, LMS-type; NAFLD, nonalcoholic fatty liver disease; PNFS, Pediatric NAFLD Fibrosis Score; SAFETY, Screening ALT For Elevation in Today's Youth; SDS, standard deviation score; STROBE, STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology.

Received March 18, 2017; accepted September 17, 2017.

Additional Supporting Information may be found at onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.29542/supinfo.

Supported by LIFE—Leipzig Research Centre for Civilization Diseases, University of Leipzig, Germany. LIFE is funded by means of the European Union, by the European Regional Development Fund (ERDF), and by means of the Free State of Saxony within the framework of the excellence initiative of the Saxonian Ministry of Science and Arts (SMWK), Free State of Saxony, Germany.

© 2017 by the American Association for the Study of Liver Diseases.

View this article online at wileyonlinelibrary.com.

DOI 10.1002/hep.29542

Potential conflict of interest: Nothing to report.

serum concentrations are associated with obesity, insulin resistance (IR), and type 2 diabetes in adults.⁽²⁾ The World Health Organization recommends in children the transformation of measurement values into standard deviation scores (SDSs) as the best way to assess their meaning in the context of age and sex for anthropometric parameters. This approach has been progressively applied and extended to other parameters. In the past 7 years, several approaches have been made to establish new reference intervals or thresholds for liver enzymes in children,^(3–9) particularly for alanine aminotransferase (ALT). Schwimmer et al.⁽⁴⁾ as well as Molleston et al.⁽¹⁰⁾ were able to show that the upper limit of ALT used in children's hospitals varies widely and is set too high to detect chronic liver disease reliably. This could be attributed to the fact that many of the reference values in current use have been derived from small cohorts of healthy or hospitalized individuals or focus on a limited age range with arbitrary partitions.⁽⁵⁾ Discrete age groups, however, do not adequately reflect the continuous changes during biological development and thus cannot always represent the exact extent and onset of age-dependent dynamics. Partition into discrete age groups for both males and females is commonly performed to describe the age and sex dependence of laboratory parameters. A continuous approach with age- and sex-related percentiles seems to be the appropriate method for laboratory analytes and will, therefore, be applied in this study.⁽⁹⁾ Such an approach requires a large number of samples from healthy children and adolescents.

OBJECTIVES

We aim to provide new age- and sex-related percentiles for ALT, aspartate aminotransferase (AST), and γ -glutamyltransferase (GGT) based on data from a large cohort of primarily healthy and normal weight children and adolescents between 11 months and 16.0 years of age (from the LIFE [Leipzig Research Centre

for Civilization Diseases] Child cohort, a representative population-based cohort in Germany).^(11,12) These percentiles are a condition to better evaluate pathological liver enzyme serum levels in order to detect children at risk for chronic liver diseases. We aim to study potential effects of sex, age, body mass index (BMI; body mass index = body weight/(height²) in kg/m²) and puberty on transaminase serum levels during early life.

Materials and Methods

This article is structured according to the STROBE (STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology) Statement checklist for cohort studies.⁽¹³⁾

STUDY DESIGN, CLINICAL STUDY REGISTRATION, AND ETHNICAL REVIEW

LIFE Child is a prospective, longitudinal, population-based cohort study with a life course approach to health and disease. The LIFE Child study has been designed to understand how and through which mechanisms and mediators (epi) genetic, metabolic, and environmental factors influence health and development in children and adolescents in modern society.^(11,12) The LIFE Child study was designed pursuant to the Declaration of Helsinki⁽¹⁴⁾ and is registered under the clinical trial number NCT02550236. The ethical committee of the University of Leipzig (Leipzig, Germany; Reg. No. 264-10-19042010) had no objection.

SETTING

Informed and written consent was obtained from all participants and their parents. Data were pseudonymized according to German data protection law. The

ARTICLE INFORMATION:

From the Hospital for Children and Adolescents, Centre of Pediatric Research, University of Leipzig, Leipzig, Germany.

ADDRESS CORRESPONDENCE AND REPRINT REQUESTS TO:

Gunter Flemming, M.D.
Hospital for Children and Adolescents, Centre of Pediatric Research,
University of Leipzig
Liebigstraße 20a

D-04103 Leipzig, Germany
E-mail: gunter.flemming@medizin.uni-leipzig.de
Tel: +49-(0)341-9726111

primary program carried out at each study center visit includes clinical history, clinical examination, blood collection, hair and urine samples, anthropometry, and different age-dependent questionnaires.^(11,12) In this study, we only included cases with complete data sets of ALT, AST, GGT, age, and BMI. Samples with too little sample material for analysis were excluded.

PARTICIPANTS

Children residing in Leipzig or neighboring municipalities between 11 months and 16.0 years were eligible for participation. The participants of this study are primarily healthy (no severe diseases like malignancies, syndromal diseases, or diabetes) children and adolescents. Thus, their data are well suited to calculation of reference values.

VARIABLES

ALT, AST, and GGT serum levels were determined in context of sex, age, pubertal stage, and BMI.

DATA SOURCES/MEASUREMENTS

At the beginning of every visit, all children participating in the LIFE Child study were asked to provide fasting, morning venous blood. The blood was collected by venipuncture (serum monovettes; Sarstedt AG&Co, Nümbrecht, Germany). The analysis was done immediately in the Central Laboratory of the University Hospital Leipzig. ALT and AST (ultraviolet tests), GGT, and alkaline phosphatase (ALP; colorimetric tests) as well as high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP; latex-enhanced immunoturbidimetric test) were measured with cobas analyzer series (photometric measuring unit, c-module; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Platelets were measured on the Sysmex XN-9000 automated hematology analyzer (Sysmex Europe, Norderstedt, Germany). Only CE in vitro diagnostic-certified laboratory tests approved for diagnostic use were applied, and all analytical procedures were performed according to the manufacturer's instruction.⁽¹¹⁾ Height was measured with the stadiometer ("Prof. Keller"; Längenmesstechnik GmbH Limbach, Limbach-Oberfrohna, Germany) with a measurement accuracy of 0.10 cm. Participants were weighed with the "Seca 701" scale (seca GmbH & Co. KG, Hamburg, Germany) which is accurate to 50 g. Pubertal stage was assessed according to Tanner stages^(15,16) by specially trained and regularly instructed investigators.

STUDY SIZE

A total of 4,662 complete cases of 2,471 individuals between the ages of 0 and 18 years from 1,819 families were available (LIFE Child cohort). To assure to work with a primarily healthy and normal weight cohort, we needed to carry out several steps of exclusion (Fig. 1).

1. Cases of children with highly elevated (>3 SDS) liver enzyme serum concentrations were identified and excluded, $N = 17$ cases.
2. Two hundred nine cases were excluded because of the intake of 1 of 92 potentially hepatotoxic drugs at the time of measurement (list of 92 hepatotoxic medications available in Supporting Table S1). Children with elevated hs-CRP serum levels (>10 mg/L) were ruled out, $N = 63$ cases.
3. Because of the small numbers of very young subjects (younger than 11 months) and older adolescents (older than 16.0 years), the age range was reduced to 11 months-16.0 years by the exclusion of $N = 310$ cases. After these exclusions, our

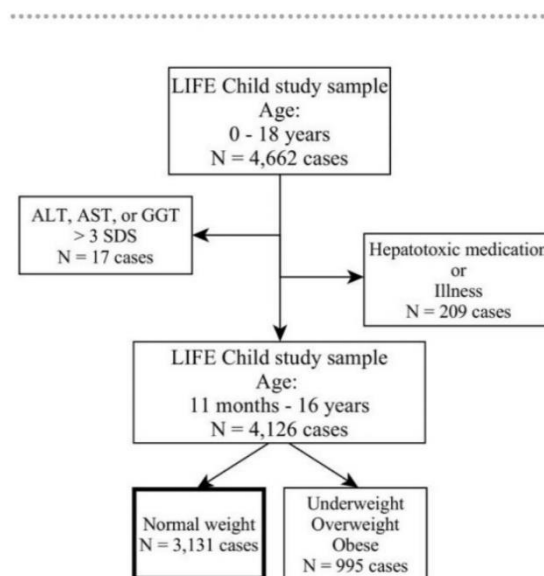


FIG. 1. In- and exclusion criteria for the study population. Composition of the reference population (primarily healthy and normal weight children and adolescents) from the LIFE Child cohort. The flowchart contains information about excluded subjects. SDS = standard deviation score, ALT = alanine aminotransferase, AST = aspartate aminotransferase, GGT = γ -glutamyltransferase, illness (hsCRP > 10 mg/l), underweight (BMI-SDS < 10 th percentile), normal weight (BMI-SDS 10th - 90th percentile), overweight (BMI-SDS > 90 th percentile, < 97 th percentile), obese (BMI-SDS > 97 th percentile).

study population consisted of 4,126 cases (1,953 measurements of girls and 2,173 measurements of boys) from children between 11 months and 16.0 years.

4. Because of the well-described effect of BMI on ALT and GGT,^(17,18) the reference population was restricted to children and adolescents with normal weight (BMI-SDS between the 10th and 90th percentile).

The resulting data (N = 3,131 cases) were used for the calculations of ALT, AST, and GGT percentiles.

STATISTICAL ANALYSES

Percentile curves for ALT, AST, and GGT were estimated as functions of the covariate age stratified by sex using a LMS method of Cole (LMS)-type method (LMSP) implemented in the package, *gamlss*.⁽¹⁹⁾ Assuming a Box-Cox Power Exponential distribution, the LMSP method of Cole⁽²⁰⁾ models four parameters (μ , σ , ν , and τ) as a function of age by using a log link. These may be interpreted as relating to location (median), scale (centile-based coefficient of variation), skewness (power transformation to symmetry), and kurtosis (degrees of freedom).⁽²⁰⁾ Estimation of parameters as continuous functions of age seems to be a more appropriate approach to reflect the physiological development of laboratory analytes.^(9,21)

Because LIFE Child has a longitudinal study design and recruits families participated with more than one child, our sampled data contain multiple measurements per child as well as measurements of siblings. Therefore, percentile calculations had to follow an adapted approach. To maintain the independence of all measurements, but also consider all measurements for the calculation, we calculated each model 1,000 times on distinct subsamples of 600 independent values (one per family). The weighting was defined to maintain the same probability for each value to be chosen.⁽²²⁾ The mean estimated parameter (location, scale, shape, and kurtosis) built the basis for the calculation of the reference values. The process was carried out twice: After the first iteration, all measurement values were transformed into SDSs, and the exclusion criteria were applied as described above. After that, the process was repeated on the cleaned data set. Finally, percentile curves for the 3rd (P3), 10th (P10), 50th (P50), 90th (P90), and 97th (P97) centile were calculated. The 3rd and 97th percentiles were defined as lower and upper limit of the reference interval. To determine the strength of the relationship of the different parameters, a hierarchical

linear regression analysis was performed. All regression analyses were carried out using multivariate linear mixed models with sex, age, BMI-SDS, and pubertal stage as predictors (Table 1). By adding random effects on the intercept for the individual nested within its family, we accounted for possible correlations between measurements and therefore for multiple measurements per person/family. The Tanner stages^(15,16) were separated into three groups (Tanner stage 1, stages 2-4, and stage 5 reflecting prepubertal, pubertal, and postpubertal stages) to emphasize on puberty-specific changes in transaminases serum levels. Analyses were performed using the package, *lme4*⁽²³⁾ (version 1.1.10), in R (version 3.2.3; R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria), which accounts for multiple measurements.⁽²⁴⁾

Results

DESCRIPTION OF THE STUDY POPULATION

The reference population used to calculate percentiles is composed of 3,131 cases (53.1% male cases) from 1,746 individuals of 1,308 families. Excluded were cases of participants with potential hepatotoxic medication, potential illness at the time of measurement, and cases of children with underweight, overweight, or obesity. Underweight, overweight, and obesity were defined by using the 10th, 90th, and 97th percentile of the BMI-SDS as cutoffs.⁽²⁵⁾

For regression analyses, we used the LIFE Child study population including cases from underweight (7.6%), normal weight (75.9%), overweight (7.4%), and obese (9.1%) children and adolescents. Mean BMI-SDS of this population was 0.20 for girls and 0.13 for boys; this slightly elevated mean can be explained by the rising number of overweight and obese children, and especially adolescents, in Germany over the past decades.⁽²⁶⁾ Characteristics of both populations are represented as mean (\pm SD) and median values in Supporting Table S2.

PERCENTILES OF LIVER ENZYME SERUM LEVELS DERIVED FROM A PRIMARILY HEALTHY AND NORMAL WEIGHT PEDIATRIC COHORT

The smoothed percentile curves (Figs. 2-4) for ALT, AST, and GGT are presented for boys and girls.

TABLE 1. Sex, Age, BMI-SDS, and Pubertal Stage Influence Transaminase Levels (Transaminase SDS Levels) in Boys and Girls*

	ALT (U/L) [ALT-SDS]		AST (U/L) [AST-SDS]		GGT (U/L) [GGT-SDS]	
	β	95% CI	β	95% CI	β	95% CI
Intercept	20.15	19.32; 20.98	46.27	45.46; 47.08	9.83	9.37; 10.29
	[-0.03]	[-0.16; 0.09]	[-0.05]	[-0.18; 0.08]	[0.02]	[-0.10; 0.14]
Sex (female) ⁽¹⁾	-1.65	-2.21; -1.09	-1.77	-2.32; -1.21	-1.17	-1.50; -0.83
	[-0.05]	[-0.14; 0.03]	[-0.03]	[-0.12; 0.06]	[-0.00]	[-0.09; 0.08]
Age (years)	-0.02	-0.13; 0.08	-1.42	-1.52; -1.31	0.37	0.32; 0.43
	[0.02]	[0.00; 0.03]	[0.01]	[-0.01; 0.03]	[0.01]	[-0.01; 0.03]
BMI-SDS	2.21	1.85; 2.56	-0.15	-0.50; 0.20	1.16	0.96; 1.36
	[0.28]	[0.22; 0.33]	[-0.07]	[-0.13; -0.02]	[0.26]	[0.21; 0.32]
Pubertal stage (prepubertal) ⁽²⁾						
Pubertal	6.29	3.36; 9.22	-1.28	-4.10; 1.54	4.36	2.94; 5.79
	[0.41]	[-0.04; 0.87]	[-0.14]	[-0.62; 0.35]	[0.51]	[0.10; 0.92]
Postpubertal	-20.67	-31.80; -9.55	-20.97	-31.59; -10.36	-11.83	-16.84; -6.82
	[-4.34]	[-6.12; -2.57]	[-3.14]	[-5.06; -1.23]	[-2.87]	[-4.40; -1.35]
Interaction						
BMI-SDS: sex (female) ⁽³⁾	-1.10	-1.50; -0.58	-0.51	-0.98; -0.05	-0.43	-0.70; -0.16
	[-0.08]	[-0.16; -0.01]	[-0.07]	[-0.14; 0.01]	[-0.01]	[-0.08; 0.06]
Pubertal: age ⁽⁴⁾	-0.53	-0.78; -0.28	0.16	-0.08; 0.41	-0.41	-0.54; -0.29
	[-0.03]	[-0.08; 0.00]	[0.01]	[-0.04; 0.05]	[-0.05]	[-0.08; -0.01]
Postpubertal: age ⁽⁵⁾	1.25	0.48; 2.03	1.48	0.75; 2.22	0.69	0.34; 1.04
	[0.29]	[0.16; 0.41]	[0.21]	[0.07; 0.34]	[0.18]	[0.08; 0.29]
Adjusted R ²	0.85 [0.64]		0.91 [0.91]		0.87 [0.69]	

ALT, AST, and GGT are dependent variables in relation to sex, age, BMI-SDS, and pubertal stage (independent variables).

Only cases with complete data regarding modeling were included. All calculations were adjusted for sex, age, BMI-SDS, and pubertal stage.

1 = reference: male; 2 = pubertal stages using Tanner stages, reference: prepubertal (Tanner stage 1), pubertal (Tanner stages 2-4), postpubertal (Tanner stage 5); 3 = interaction between BMI-SDS and sex with male as reference; 4 = interaction between pubertal (Tanner stages 2-4) and age in years Δ increase/decrease of transaminases serum levels per year; 5 = interaction between postpubertal (Tanner stage 5) and age in years Δ increase/decrease of transaminases serum levels per year.

*Multivariate linear mixed-model regression in primarily healthy children and adolescents between 11 months and 16 years (N = 3,325 cases from LIFE child study cohort).

Abbreviations: β , regression coefficient; 95% CI, 95% confidence interval for the regression coefficient;

ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; GGT = γ -glutamyltransferase; BMI = body mass index;

SDS = standard deviation score; ALT,

The corresponding reference values are represented as P3, P10, P50 (median), P90, and P97 and tabulated the coefficient of variation (sigma), skewness (nu), and kurtosis (tau) in half-year age groups and separated for boys and girls (Supporting Tables S3-S5).

ALT percentiles show a similar-shaped pattern in boys and girls and starting with a peak in infancy, followed by a drop of the median until the age of 4.0 in girls and 6.5 years in boys. After that decline, we found rising values, which resulted in an earlier ALT peak in girls (17.7 U/L between 7.5 and 9.5 years) and a later peak in boys (18.5 U/L at 11.5 years). During early adolescence, the median ALT serum concentrations fall continuously in boys and in girls. Whereas this decline was found in all depicted percentiles in girls, the 90th and 97th percentiles in boys remained stable, even slightly increased. Median ALT serum concentration varies between 14.0 and 20.3 U/L in girls and

between 17.1 and 21.1 U/L in boys. The 97th percentile, which is commonly used as a cutoff, spans from 24.2 to 31.7 U/L in girls and from 29.9 to 38.0 U/L in boys. The range between the 3rd and the 97th percentile is more apparent in boys during preschool and adolescence and more pronounced in girls during puberty.

Both female and male AST percentiles follow a continuous downward trend with increasing age, which differs considerably from the patterns shown by ALT and GGT serum levels. Before the age of 11, no significant sex-specific differences can be found for P50, but after that age, AST serum concentrations more strongly decrease in girls. Boys present decreasing medium serum concentrations, whereas the female percentiles appear to reach a plateau at 23.1 U/L. The median spans from 23.1 to 46.1 U/L in girls and from 25.7 to 47.6 U/L in boys. The upper limit (97th percentile) ranges from 35.2 to 62.9 U/L in females and

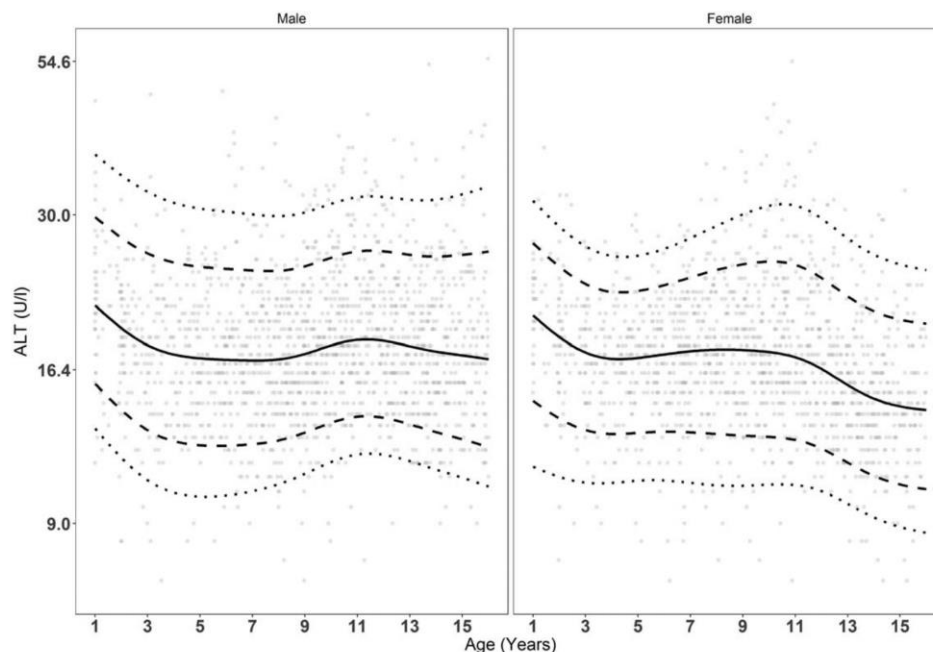


FIG. 2. Age- and sex-related percentiles of alanine aminotransferase (ALT). Smoothed percentile curves for alanine aminotransferase (ALT) (U/L, y-axis: log scale) in males/females over the age (11 months to 16.0 years) based on a normal weight reference population from a LIFE Child study sample: ($N = 3,131$, $N_{\text{Male}} = 1,664$, $N_{\text{Female}} = 1,467$). The 3rd (P3), 10th (P10), 50th (P50, median), 90th (P90) and 97th (P97) percentiles are shown.

from 41.5 to 68.7 U/L in males. All female percentiles curves follow parallel courses, whereas enlarging ranges between P3 and P97 were apparent in boys, especially with the onset of puberty.

The GGT pattern revealed sex-specific differences. Whereas there is a continuous increase of P50 in boys over the whole age span, girls' GGT serum levels rise until they reach a maximum of 12.0 U/L at the age of 9.5 years. After that peak, the serum concentrations slightly fall to reach a plateau of 11.0 U/L at 13.5 years. Median serum concentrations vary from 9.5 to 12.0 U/L in girls and from 9.4 to 14.8 U/L in boys. The upper limit (97th percentile) ranges from 14.5 to 18.1 U/L in girls and from 14.1 to 27.4 U/L in boys.

The parameter tables for each of the parameters are provided as part of an R package including convenient functions to transform measurement values into SDS values. It is openly available from CRAN (<http://CRAN.R-project.org/package=childds>). Practically, it would so either be possible to calculate the centile/SDS of a patient's value and provide this in addition to the absolute levels (or the patient level could be plotted

into the curves). This would even provide the opportunity to track the laboratory values longitudinally. Alternatively, the normal range could be given in age-specific reference intervals.

INFLUENCING FACTORS ON LIVER ENZYME SERUM LEVELS: EFFECTS OF AGE, SEX, PUBERTY, AND BMI

All cases between 11 months and 16 years (including all BMIs) with complete data regarding modeling were considered for the multivariate regression analysis. Regression analyses were performed twice with the raw and SDS values of the depended variables to account for age- and sex-specific effects. Detailed results are summarized in Table 1.

INFLUENCE OF AGE

AST and GGT serum concentrations are significantly associated with age. Whereas AST serum levels

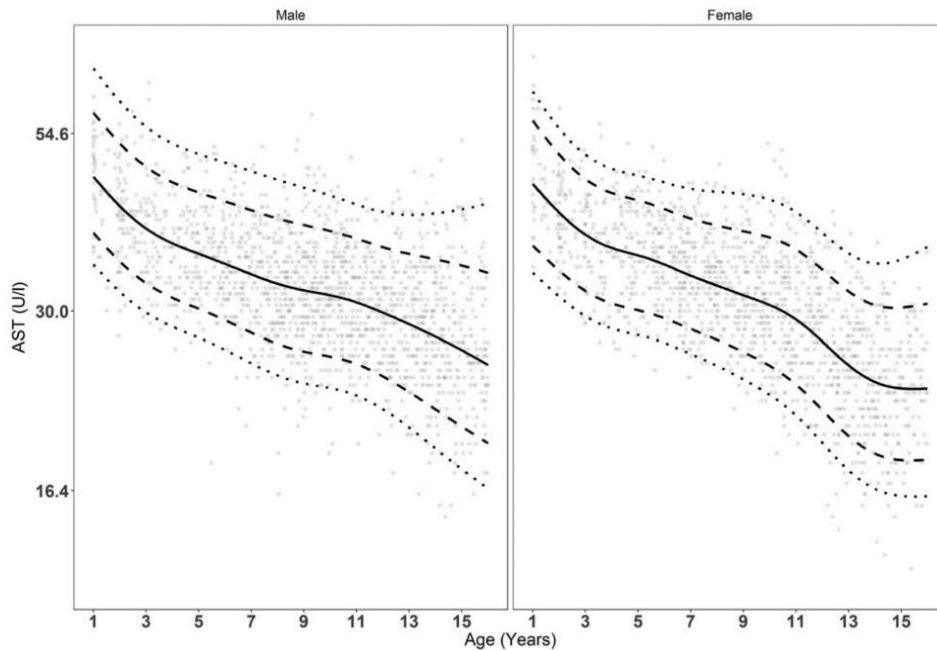


FIG. 3. Age- and sex-related percentiles of aspartate aminotransferase (AST). Smoothed percentile curves for aspartate aminotransferase (AST) (U/l, y-axis: log scale) in males/females over the age (11 months to 16.0 years) based on a normal weight reference population from a LIFE Child study sample: (N = 3,131, N_{Male} = 1,664, N_{Female} = 1,467. The 3rd (P3), 10th (P10), 50th (P50, median), 90th (P90) and 97th (P97) percentiles are shown.

significantly decrease with increasing age ($\beta = -1.4$), GGT serum levels significantly rise with age ($\beta = 0.37$). However, there is no significant effect of age on ALT serum levels found beyond the effect already conveyed by puberty.

INFLUENCE OF SEX

All three liver enzymes are significantly associated with sex. Boys present higher mean serum levels of ALT, AST, and GGT compared to girls. This effect is strongest for AST ($\beta = -1.77$), medium for ALT ($\beta = -1.65$), and weakest for GGT ($\beta = -1.17$).

INFLUENCE OF PUBERTY

Puberty has significant effects on all three investigated transaminases independently of age. During puberty (Tanner stage 2-4), children exhibit significantly higher ALT ($\beta = 6.29$) and GGT ($\beta = 4.36$) serum levels compared to prepubertal children (Tanner stage 1). These effects are stronger than the

associations with age. In contrast, AST serum concentrations are negatively associated with puberty ($\beta = -1.28$). Postpubertal adolescents (Tanner stage 5) revealed significantly lower transaminases serum levels compared to prepubertal children ($\beta = -20.67$ for ALT, -20.97 for AST, and -11.83 for GGT).

INFLUENCE OF BMI

A significant positive correlation was found between BMI-SDS and ALT serum concentrations ($\beta = 2.21$), a similar, but slightly weaker, association was found between GGT and BMI-SDS ($\beta = 1.16$). The depicted associations are weaker in girls. Whereas a rise of the BMI-SDS of around +1 results in an ALT serum level increase of around 2.21 U/L in boys, it only results in a rise of around 1.11 U/L in girls. This applies accordingly to associations with GGT serum levels. Surprisingly, analysis revealed a weak negative association between AST serum concentrations and BMI-SDS ($\beta = -0.15$). This effect is stronger in girls ($\beta = -0.66$) compared to boys ($\beta = -0.15$).

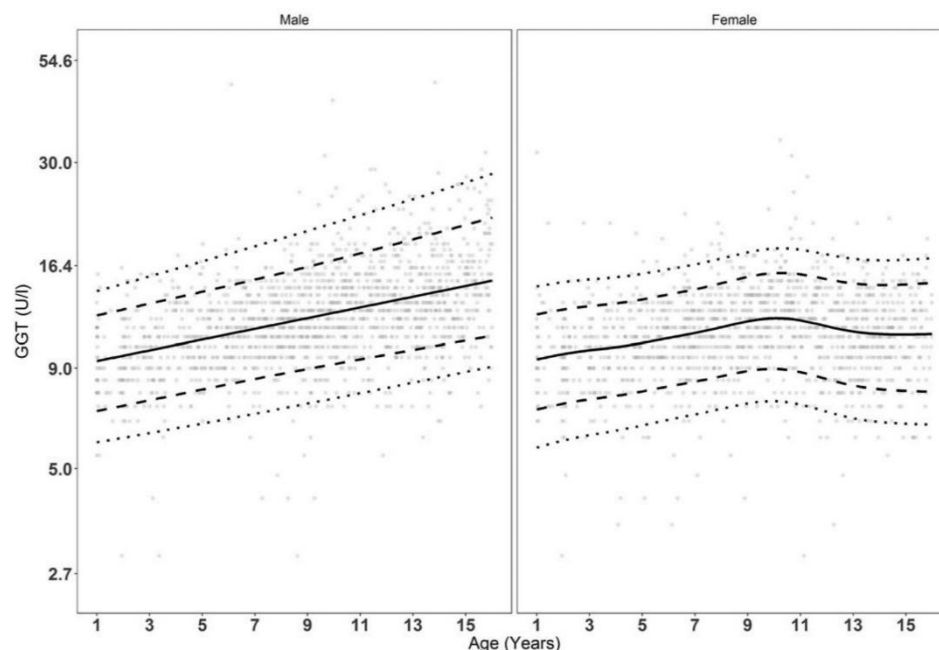


FIG. 4. Age- and sex-related percentiles of γ -glutamyltransferase (GGT). Smoothed percentile curves for γ -glutamyltransferase (GGT) (U/l, y-axis: log scale in males/females over the age (11 months to 16.0 years) based on a normal weight reference population from a LIFE Child study sample: (N = 3,131, N_{Male} = 1,664, N_{Female} = 1,467. The 3rd (P3), 10th (P10), 50th (P50, median), 90th (P90) and 97th (P97) percentiles are shown.

ELEVATED ALT SERUM LEVELS ARE ASSOCIATED WITH A HIGHER PEDIATRIC NAFLD SCORE

Liver biopsy remains the gold standard for assessing NAFLD severity and staging of fibrosis; however, performing a liver biopsy for screening purpose is neither practical nor ethical and therefore cannot be part of a cohort study. For this reason, Alkhouri et al.⁽²⁷⁾ have developed a noninvasive test to identify children with advanced fibrosis (fibrosis score ≥ 3): The Pediatric NAFLD Fibrosis Score (PNFS), which was defined as: $z = 1.1 + (0.34 \cdot \sqrt{\text{ALT}}) + 0.002 \cdot \text{ALP} - (1.1 \cdot \log(\text{platelets})) - (0.02 \cdot \text{GGT})$. This value was converted into a probability distribution. We applied the recommended cutoff of 8%, which would provide sensitivity and specificity values of 97% and 33% to detected children with advanced liver fibrosis (LF).⁽²⁷⁾ However, this new score was not validated in further studies.

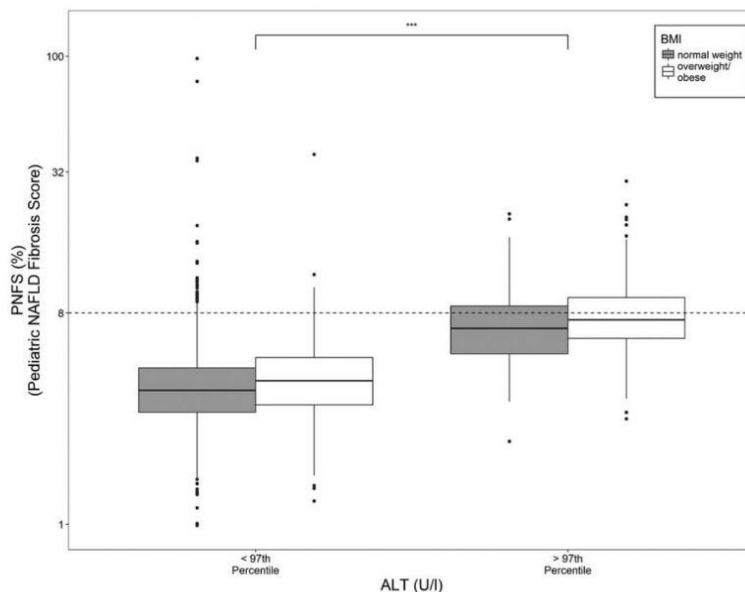
We found that increasing liver enzyme SDS values are accompanied by a higher PNFS. This influence is

higher than the mathematical influence of the respective term in the formula. In addition, Fig. 5 revealed that children with ALT serum concentrations above the 97th percentile present significantly higher ($P < 0.001$) PNFS values compared to children with lower ALT serum levels (< 97 th percentile). Furthermore, we found that 7.9% of the overweight/obese children show PNFS values above 8%. By looking at the group of children with overweight/obesity and ALT serum levels > 97 th percentile, this percentage even represents 39.5%. However, also, 29.0% of children with normal weight and elevated ALT serum concentrations (> 97 th percentile) present PNFS values above 8%, possibly indicating a high risk for advanced LF.

Discussion

Our study presented age- and sex-specific percentiles of ALT, AST, and GGT derived from the LIFE Child cohort in Germany, which consists of 3,131 cases of normal weight children and adolescents

FIG. 5. Elevated alanine aminotransferase serum levels (ALT) and overweight/obesity influence the risk for advanced liver fibrosis. ALT serum concentrations (U/l) > 97th percentiles are associated with higher PNFS (Pediatric NAFLD Fibrosis Score) values and present significantly (p -value < 0.001) higher PNFS values compared to cases with ALT serum levels < 97th percentile. PNFS is a non-invasive screening tool to detect children with advanced fibrosis (Fibrosis score ≥ 3). A cut-off at 8% provides sensitivity and specificity values of 97% and 33%. Overweight/obese children present higher PNFS values. NALT < 97th percentile = 3,580 cases (3,010 normal weight, 567 overweight/obese), NALT > 97th percentile = 221 (107 normal weight, 114 overweight/obese).



between 11 months and 16.0 years. This study presents percentiles for all three transaminases derived from normal weight children and adolescents, carried out within a standardized protocol of a cohort study and is one of the largest cohort studies on this topic. In the past 7 years, various studies have been conducted to examine ALT in children and adolescents, whereas far fewer have been performed for AST or GGT. Characteristics of studies that published reference intervals or percentiles for transaminases are available in Supporting Table S6. The primary studies are KiGGS⁽⁸⁾ (nationwide health survey in children and adolescents carried out by the Robert Koch Institute, Germany), Estey et al.⁽⁵⁾ (results from the CALIPER [Canadian Laboratory Initiative in Pediatric Reference Intervals] cohort study, Canada), Zierk et al.⁽⁹⁾ Schwimmer et al.⁽⁴⁾ (SAFETY [Screening ALT For Elevation in Today's Youth] study, USA), England et al.⁽⁶⁾ Poustchi et al.⁽³⁾ and Dehghani et al.⁽⁷⁾

COMPARISON OF OUR NEW PERCENTILES WITH PREVIOUS CUTOFFS AND REFERENCE INTERVALS

The aforementioned studies differ markedly regarding the country of origin, ethnical structure of the

reference populations, age groups applied, inclusion and exclusion criteria, sample size, laboratory devices, statistical methods, and serum levels proposed as the cutoff. Whereas most of the studies used P95 as the upper limit, Zierk et al.⁽⁹⁾ KiGGS⁽⁸⁾ and LIFE Child propose P97/P97.5 as a threshold. Only KiGGS⁽⁸⁾ and England et al.⁽⁶⁾ estimated percentiles; Zierk et al.⁽⁹⁾ applied a mixture of healthy and pathological samples and a complex statistical approach to calculate percentiles. Dehghani et al.⁽⁷⁾ presented reference values for three distinct age intervals. This explains substantial differences in the serum levels proposed as cut-off values.

The initial decrease in ALT has also been described by England et al.⁽⁶⁾ and apart from the missing ALT peak in early puberty in boys, Zierk et al.⁽⁹⁾ presented similar patterns for boys and girls. Their reference values are only slightly higher than our 97th percentile values, especially during infancy. Estey et al.⁽⁵⁾ Schwimmer et al.⁽⁴⁾ Poustchi et al.⁽³⁾ and Dehghani et al.⁽⁷⁾ published reference values that are markedly below ours. Looking at the trends shown by reference intervals of distinct age groups, we found noticeable changes during the onset of puberty. According to Siest et al.⁽²⁸⁾ the most commonly used cut-off values for ALT and AST in adults are 40 U/L (range, 30–50). Kim et al.⁽²⁹⁾ recently estimated male thresholds

of 30 U/L for ALT and 31 U/L for AST to be the best cutoffs for prediction of liver disease. These cutoffs show good accord for our ALT P97, but are significantly below our AST upper limit. Our AST threshold exceeds 31 U/L throughout the observed age span. Apart from Kim et al.,⁽²⁹⁾ only a few studies exist that examined AST. Estey et al.⁽⁵⁾ and Zierk et al.⁽⁹⁾ both found similar dynamics to our percentiles for boys and girls, whereas Dehghani et al.⁽⁷⁾ presented increasing reference values over age for both sexes. The proposed cut-off values from Estey et al.⁽⁵⁾ and Dehghani et al.⁽⁷⁾ are below our 97th percentiles, but those published by Zierk et al.⁽⁹⁾ are in good accord. GGT percentiles were published by KiGGS⁽⁸⁾ in 2009 and by Zierk et al.⁽⁹⁾ in 2015. Their percentiles correspond quite well with ours. The LIFE Child percentiles slightly exceed KiGGS⁽⁸⁾ serum levels during adolescence. Compared to Zierk et al.⁽⁹⁾ our reference values are slightly higher in girls during adolescence.

Comparing all mentioned reference values, we found differences in the described trends, particularly during the onset of puberty. The previously published patterns showed varying changes during that period, such as dips or rises. However, variations have also been found within our percentiles. Most studies described sex-specific differences in serum level concentrations.^(4,6,8,9) In addition, we showed that sex disparity with regard to transaminases appears to increase with age. Boys exceed girls with their serum concentration regarding all three transaminases. Obviously, age and, more significantly, puberty influence the level of transaminases.

Differences as described above may be partly caused by an increasing liver size or rising muscle mass with age as well as changing fat-muscle distribution, especially during puberty.^(30,31) Interactions between sex hormones and metabolic processes (e.g., IR) may contribute to sex- and puberty-specific alterations.⁽³²⁻³⁴⁾

POTENTIAL NAFLD IN OVERWEIGHT CHILDREN WITH ELEVATED ALT

NAFLD is the most common form of hepatic disease during childhood.⁽³⁵⁾ Its overall prevalence in children has reached approximately 10%, including up to 17% in teenagers and 40%-70% among obese children.⁽³⁶⁾ It appears twice as often in boys than in girls and has its onset mainly peripubertal.^(35,37) NAFLD encompasses a large spectrum of conditions ranging

from simple hepatic steatosis, which is reversible, to steatohepatitis with or without fibrosis and to hepatic cirrhosis and its complications.⁽³⁵⁾ We found that 39% of the overweight/obese children with elevated ALT serum levels presented PNFS values above 8%, possibly indicating an increased risk for advanced LF. However, it is well known that new scoring systems need to be evaluated externally by further (comparing) studies. The PNFS is a new tool and its utility and transferability from one study cohort to another cohort need to be assessed, addressing also possible bias attributed to heterogeneity in pediatric NAFLD in different countries.

Early diagnosis and therapy are essential to prevent further progression. For that reason, it is important to have access to reliable reference values derived from primarily healthy and normal weight children, especially during critical phases like puberty.

STRENGTHS AND LIMITATIONS

The main strengths of our study are the composition and large sample size of the reference population, standardized assessment, and usage of statistical and laboratory methods. LIFE Child is one of the largest cohorts of primarily healthy and normal weight children and adolescents in Europe and therefore very well suited for the calculation of reference values. This study provides an openly available R package including convenient functions to transform measurement values into SDS values for ALT, AST, and GGT. Regarding limitations, others have already reported that the composition of the LIFE Child cohort differs from the general distribution in the city of Leipzig, especially regarding the social background of the participants.⁽³⁸⁾ Children from socially disadvantaged families were under-represented in the LIFE Child study, possibly because of a less-pronounced health awareness.⁽³⁹⁾ Because of the ethnic composition of the city of Leipzig and under-representation of nonwhites, this study does not describe the potential influence of ethnicity on transaminases. Therefore, the suitability and/or comparability of these reference values for other ethnicities needs to be investigated.

The usage of the PNFS scoring system is a further limitation of this study. This score has been developed recently, therefore its superior performance has not yet been confirmed by studies other than Alkhouri et al.⁽²⁷⁾ However, this noninvasive scoring system could be a useful screening tool to select children with NAFLD who are at risk for advanced disease to

undergo further investigations and more-aggressive monitoring.

Current reference values of ALT, AST, and GGT serum concentrations from primarily healthy and normal weight children and adolescents between 11 months and 16.0 years were proposed. A methodological approach permitted a detailed description of age dependency. We found that age, sex, BMI, and puberty status influence the patterns of the three transaminases considered here and highlight the need for sex- and age-specific reference values. The utility of these current reference values in children and adolescents has to be evaluated by further studies. We hope that this study will contribute to daily practice in health care for children and adolescents.

Acknowledgments: German Research Foundation (DFG) supports parts of this project (oral examination). Additional funding is being obtained. We are deeply grateful to all the families who have taken part in this study, and the whole LIFE Child team. We thank David Petroff for the linguistic finalization of the manuscript.

REFERENCES

- 1) Vajro P, Maddaluno S, Veropalumbo C. Persistent hypertransaminasemia in asymptomatic children: a stepwise approach. *World J Gastroenterol* 2013;19:2740-2751.
- 2) Lee SY, Sung E, Chang Y. Elevated serum gamma-glutamyltransferase is a strong marker of insulin resistance in obese children. *Int J Endocrinol* 2013;2013:578693.
- 3) Poustchi H, George J, Esmaili S, Esna-Ashari F, Ardalan G, Sepanlou SG, et al. Gender differences in healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels in adolescence. *PLoS One* 2011;6:e21178.
- 4) Schwimmer JB, Dunn W, Norman GJ, Pardee PE, Middleton MS, Kerkar N, et al. SAFETY study: alanine aminotransferase cutoff values are set too high for reliable detection of pediatric chronic liver disease. *Gastroenterology* 2010;138:1357-1364.
- 5) Estey MP, Cohen AH, Colantonio DA, Chan MK, Marvasti TB, Randell E, et al. CLSI-based transference of the CALIPER database of pediatric reference intervals from Abbott to Beckman, Ortho, Roche and Siemens Clinical Chemistry Assays: direct validation using reference samples from the CALIPER cohort. *Clin Biochem* 2013;46:1197-1219.
- 6) England K, Thorne C, Pembrey L, Tovo PA, Newell ML. Age- and sex-related reference ranges of alanine aminotransferase levels in children: European paediatric HCV network. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;49:71-77.
- 7) Dehghani SM, Erjace A, Haghighat M, Imanieh MH, Ahmadi R. Upper Limits of Normal Aminotransferases in Children of Southern Iran. *J Compr Ped* 2014;4:e15274.
- 8) Dortsch R, Rosario AS, Scheidt-Nave C, Thierfelder W, Thamm M, et al. Population-based distributions of selected laboratory parameters from the KiGGS study (study on health of children and young people in Germany), 2009. https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsB/KiGGS_Laborparameter.pdf?__blob=publicationFile. Accessed August 23, 2017.
- 9) Zierk J, Arzideh F, Rechenauer T, Haeckel R, Rascher W, Metzler M, et al. Age- and sex-specific dynamics in 22 hematology and biochemical analytes from birth to adolescence. *Clin Chem* 2015;61:964-973.
- 10) Molleston JP, Schwimmer JB, Yates KP, Murray KF, Cummings OW, Lavine JE, et al. Histological abnormalities in children with nonalcoholic fatty liver disease and normal or mildly elevated alanine aminotransferase levels. *J Pediatr* 2014;164:707-713.e3.
- 11) Quante M, Hesse M, Döhnert M, Fuchs M, Hirsch C, Sergeyev E, et al.; LIFE Child Study Investigators. The LIFE child study: a life course approach to disease and health. *BMC Public Health* 2012;12:1021.
- 12) Poulain T, Baber R, Vogel M, Pietzner D, Kirsten T, Jurkutat A, et al. The LIFE Child study: a population-based perinatal and pediatric cohort in Germany. *Eur J Epidemiol* 2017;32:145-158.
- 13) Elm EV, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening of Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol* 2008;61:344-349.
- 14) WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. Available at: <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>. Accessed on January 9, 2017.
- 15) Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969;44:291-303.
- 16) Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970;45:13-23.
- 17) Lee SY, Sung E, Chang Y. Elevated serum gamma-glutamyltransferase is a strong marker of insulin resistance in obese children. *Int J Endocrinol* 2013;2013:578693.
- 18) Elizondo-Montemayor L, Ugalde-Casas PA, Lam-Franco L, Bustamante-Careaga H, Serrano-González M, Gutiérrez NG, Martínez U. Association of ALT and the metabolic syndrome among Mexican children. *Obes Res Clin Pract* 2014;8:e79-e87.
- 19) Rigby RA, Stasinopoulos DM. Generalized additive models for location, scale and shape (with discussion). *J R Stat Soc C* 2005;54:507-554.
- 20) Rigby RA, Stasinopoulos DM. Smooth centile curves for skew and kurtotic data modelled using the Box-Cox power exponential distribution. *Stat Med* 2004;23:3053-3076.
- 21) Rieger K, Vogel M, Engel C, Ceglarek U, Thiery J, Kratzsch J, et al. Reference intervals for iron-related blood parameters: results from a population-based cohort study (LIFE Child). *J Lab Med* 2016;40:31-41.
- 22) Vogel M, Kirsten T, Kratzsch J, Engel C, Kiess W. A combined approach to generate laboratory reference intervals using unbalanced longitudinal data. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2017;30:767-773.
- 23) Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw* 2015;67:1-48.
- 24) R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2016. Available at: <https://www.R-project.org/>. Accessed February 02, 2017.
- 25) Wabitsch M, Kunze D. Consensus-based (S2) guideline for diagnostic, therapy and prevention of overweight and obesity in children and adolescents. Version of 15 October 2015. www.a-ga.de. Accessed August 23, 2017.

- 26) Kurth BM, Schaffrath RA. The prevalence of overweight and obese children and adolescents living in Germany. Results of the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2007;50:736-743.
- 27) Alkhoury N, Mansoor S, Giammaria P, Liccardo D, Lopez R, Nobili V. The development of the pediatric NAFLD fibrosis score (PNFS) to predict the presence of advanced fibrosis in children with nonalcoholic fatty liver disease. *PLoS One* 2014;9:e104558.
- 28) Siest G, Schiele F, Galteau MM, Panek E, Steinmetz J, Fagnani F, et al. Aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities in plasma: statistical distributions, individual variations, and reference values. *Clin Chem* 1975;21:1077-1087.
- 29) Kim HC, Nam CM, Jee SH, Han KH, Oh DK, Suh I. Normal serum aminotransferase concentration and risk of mortality from liver diseases: prospective cohort study. *BMJ* 2004;328:983.
- 30) Safak AA, Simsek E, Bahcebasi T. Sonographic assessment of the normal limits and percentile curves of liver, spleen, and kidney dimensions in healthy school-aged children. *J Ultrasound Med* 2005;24:1359-1364.
- 31) Loomba-Albrecht LA, Styne DM. Effect of puberty on body composition. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009;16:10-15.
- 32) Galloway PJ. Sex hormone binding globulin concentration as a prepubertal marker for hyperinsulinaemia in obesity. *Arch Dis Child* 2001;85:489-491.
- 33) Marzullo P, Del Giudice EM, Santoro N. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: new insights and future directions. *World J Hepatol* 2014;6:217-25.
- 34) Temple JL, Cordero P, Li J, Nguyen V, Oben JA. A guide to non-alcoholic fatty liver disease in childhood and adolescence. *Int J Mol Sci* 2016;17. pii: E947. doi: 10.3390/ijms17060947.
- 35) Marzullo P, Miraglia del Giudice E, Santoro N. Pediatric fatty liver disease: role of ethnicity and genetics. *World J Gastroenterol* 2014;20:7347-7355.
- 36) Clemente MG, Mandato C, Poeta M, Vajro P. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: Recent solutions, unresolved issues, and future research directions. *World J Gastroenterol* 2016;22:8078-8093.
- 37) Schwimmer JB, McGreal N, Deutsch R, Finegold MJ, Lavine JE. Influence of gender, race, and ethnicity on suspected fatty liver in obese adolescents. *Pediatrics* 2005;115:e561-e565.
- 38) Dathan-Stumpf A, Vogel M, Rieger K, Thiery J, Hiemisch A, Kiess W. Serum lipid levels were related to socio-demographic characteristics in a German population-based child cohort. *Acta Paediatr* 2016;105:e360-e367.
- 39) Dathan-Stumpf A, Vogel M, Hiemisch A, Thiery J, Burkhardt R, Kratzsch J, et al. Pediatric reference data of serum lipids and prevalence of dyslipidemia: results from a population-based cohort in Germany. *Clin Biochem* 2016;40:740-749.

Author names in bold designate shared co-first authorship.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found at onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.29542/supinfo.

5 Zusammenfassung der Arbeit

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades *doctor medicinae* (Dr. med.)

Titel:

**Neue Perzentilen für ALT, AST und GGT im Kindes- und Jugendalter –
beeinflusst von Alter, Geschlecht, Pubertät und BMI**

Eingereicht von: Sarah Bußler

Angefertigt an: Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

Betreut von: Prof. Dr. med. Wieland Kieß
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

Dr. med. Gunter Flemming
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht: 29.09.2020

Hintergrund: In Industrienationen stellt die „nicht-alkoholische Fettlebererkrankung“ (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) die häufigste Lebererkrankung im Kindes- und Jugendalter dar [13]. Während der letzten 20 Jahre war eine deutliche Zunahme der NAFLD-Prävalenz zu beobachten [18, 19]. Die Erkrankung wird als hepatische Manifestation des „Metabolischen Syndroms“ (MetS) betrachtet und ist eng mit Adipositas und Insulinresistenz assoziiert [2, 16, 28]. Frühe Stadien von NAFLD sind häufig reversibel, ein Fortschreiten der Erkrankung kann jedoch bis zur Entwicklung einer irreversiblen Leberzirrhose mit Komplikationen wie Leberversagen und hepatozellulärem Karzinom führen [16]. Zudem gibt es weitere schwerwiegende Lebererkrankungen (Morbus Wilson, Autoimmunhepatitiden), die sich bereits im Kindes- und Jugendalter manifestieren können [93]. Es ist von essenzieller Bedeutung bei

Verdacht auf das Vorliegen einer dieser Erkrankungen Früherkennungsmaßnahmen einzuleiten, um rechtzeitig entsprechende therapeutische Maßnahmen veranlassen zu können [15, 31]. Dafür werden zuverlässige Screeninginstrumente benötigt [52]. Die Bestimmung von Leberenzymen stellt eine einfache, kostengünstige, universell verfügbare und wenig invasive Screeningmethode dar [15]. Zu den am häufigsten bestimmten Leberenzymen gehören die Alanin-Aminotransferase (ALT), die Aspartat-Aminotransferase (AST) und die Gamma-Glutamyltransferase (GGT) [35, 36]. Um eine adäquate Interpretation der Testergebnisse zu ermöglichen, werden aktuelle, standardisierte alters- und geschlechtsspezifische Referenzwerte dieser Transaminasen benötigt [52]. In Deutschland stehen derzeit keine Referenzwerte für alle drei Transaminasen für Kinder und Jugendliche zur Verfügung, die einerseits auf einer großen Kohorte gesunder Kinder und Jugendlicher basieren und andererseits mit einem kontinuierlichen Ansatz unter Anwendung der sogenannten LMS-Methode erstellt wurden. Darüber hinaus sind die Einflüsse von Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index (BMI) und Pubertätsstatus auf die ALT-, AST- und GGT-Serumkonzentrationen noch unzureichend erforscht.

Aus diesen Gründen ist es das Ziel der vorliegenden Arbeit aktuelle alters- und geschlechtsspezifische Perzentilen für ALT, AST und GGT für Kinder- und Jugendliche in Leipzig zu generieren und den Einfluss verschiedener Faktoren (Alter, Geschlecht, BMI und Pubertätsstatus) auf deren Serumkonzentrationen zu analysieren.

Für die Untersuchungen wurden Daten aus der LIFE CHILD-Studie von Dezember 2011 bis Juli 2015 verwendet [3, 4]. Die Studienteilnehmer*innen sind gesunde Kinder und Jugendliche zwischen null und 18 Jahren aus dem Raum Leipzig.

Ergebnisse und Diskussion: Die LIFE CHILD-Studienpopulation besteht aus 4126 kompletten Datensätzen von Individuen zwischen null und 18 Jahren. Diese Population wurde für die multivariaten Regressionsanalysen verwendet und setzt sich aus untergewichtigen (7,6 %), normalgewichtigen (75,9 %), übergewichtigen (7,4 %) und adipösen (9,1 %) Studienteilnehmer*innen zusammen (IV.B, Tabelle 2a). Um eine gesunde und normalgewichtige Referenzpopulation für die Erstellung neuer Perzentilen zu erhalten, wurden einige Datensätze ausgeschlossen. Die Referenzpopulation besteht aus 3131 Fällen (53,1 % Jungen und 46,9 % Mädchen) von 1746 normalgewichtigen Individuen (zwischen elf Monaten und 16 Jahren) aus 1308 Familien.

In der multivariaten Regressionsanalyse bestehen signifikante Zusammenhänge zwischen dem Geschlecht und den Serumkonzentrationen der drei Transaminasen. Bei Jungen zeigen sich signifikant höhere Werte, insbesondere ab Beginn der Pubertät. Derartige Geschlechtsunterschiede wurden bereits von anderen Studien beschrieben [47, 49, 50, 54, 55,

82]. In dem verwendeten Regressionsmodell zeigen sich die erwarteten signifikanten Assoziationen zwischen Alter und AST ($\beta = -1,40$) beziehungsweise GGT ($\beta = 0,37$). Für ALT ließ sich jedoch kein signifikanter Effekt des Alters (präpubertär, Tanner Stadium 1) nachweisen, der über das bereits durch den Einfluss der Pubertät vermittelte Maß hinausginge. Detailliert betrachtet herrscht präpubertär ein geringfügig negativer ALT-Alters-Zusammenhang vor; pubertär (Tanner Stadium 2 – 4) wird dieser negativer und postpubertär (Tanner Stadium 5) sogar deutlich positiv ($\beta = 1,23$) (IV.A, Abb. 2). Der AST-Alters-Zusammenhang ist sowohl präpubertär als auch während der Pubertät negativ (IV.A, Abb. 4). Bei GGT ist die Assoziation mit dem Alter bei präpubertären Kindern und postpubertären Jugendlichen positiv. Während der Pubertät besteht kein signifikanter Zusammenhang mit dem Alter (IV.A, Abb. 6). Bei allen drei Transaminasen herrschen bezüglich der Pubertätsstadien signifikante Unterschiede vor; mit höheren ALT- und GGT-Konzentrationen und niedrigeren AST-Werten pubertär im Vergleich zu präpubertär. Postpubertär waren für alle drei Transaminasen niedrigere Serumkonzentrationen im Vergleich zu präpubertären Kindern zu beobachten. Es ist bekannt, dass zwischen Alter und Pubertätsstatus eine Korrelation besteht, deren Ausprägungsgrad von dem Zeitpunkt, an dem ein Individuum in die Pubertät eintritt, mitbeeinflusst wird [94]. Dies führt, unter Berücksichtigung der Alters-Pubertäts-Interaktion, zu einem komplexeren Zusammenhang zwischen Pubertätsstatus und Transaminasen als initial angenommen. Ähnliche Transaminasenverläufe über das Alter zeigen die Perzentilen von Zierk et al. und Li et al. [47, 52]. Estey et al. publizierten vergleichbare Referenzwerte für AST und Dortsch et al. für GGT [49, 82]. Der Hauptunterschied zu den dort propagierten Referenzwerten liegt in der Höhe der angegebenen Serumkonzentrationen der Transaminasen. Die beste Übereinstimmung findet sich mit den GGT-Perzentilen der KiGGS-Studie, deren Studiendesign und Analyseverfahren dem der vorliegenden Studie sehr ähnelt [82]. Unterschiede zwischen präpubertären, pubertären und postpubertären Serumkonzentrationen der drei Transaminasen wurden zwar von verschiedenen Autor*innen beschrieben, der genaue Einfluss der Pubertät auf ALT, AST und GGT jedoch nicht analysiert [47, 49, 52, 82]. Lediglich Zierk et al. zeigten, dass bei postpubertären Mädchen signifikant niedrigere ALT- und AST-Konzentrationen vorherrschen [47]. Zusammenfassend weisen die drei Transaminasen der vorliegenden Studie eine Alters-, Geschlechts- und Pubertätsabhängigkeit auf. Derartige Effekte könnten auf eine Zunahme der Lebergröße und Muskelmasse, aber auch auf eine sich ändernde Verteilung von Fett- und Muskelmasse während der Pubertät zurückgeführt werden [95, 96]. Die Interaktionen von Sexualhormonen und metabolischen Botenstoffen (physiologische Zunahme der Insulinresistenz während der Pubertät) könnte möglicherweise ebenfalls einen Einfluss auf die Geschlechts- und Pubertätsspezifität der Transaminasen haben [12, 77, 97].

In dem angewandten Regressionsmodell sind ALT und GGT signifikant positiv mit dem BMI-SDS assoziiert, was sich mit den Hypothesen des Studienprojekts und der aktuellen Studienlage deckt [54, 62]. Wie bei Poustchi et al. ist die Assoziation des BMI-SDS mit der leberspezifischen ALT am stärksten ausgeprägt [54]. Bei Mädchen geht ein erhöhter BMI-SDS mit einer stärkeren ALT- beziehungsweise GGT-Erhöhung einher als bei Jungen (IV.A, Abb. 3 und 7). Entgegen der Erwartungen und bisherigen Studienergebnisse, die keinen oder nur einen schwach positiven Zusammenhang zwischen AST und dem BMI-SDS beschrieben, zeigt sich in der LIFE CHILD-Studienkohorte eine negative Assoziation ($\beta = -0,15$); diese ist bei Jungen deutlich negativer ausgeprägt (IV.A, Abb. 5) [63]. 9,1 % der Kinder und Jugendlichen dieser Studienpopulation sind adipös. Adipositas stellt einen der Hauptrisikofaktoren für NAFLD dar [16]. Unter der Annahme, dass 34,2 % (nach Anderson et al.) der adipösen Kinder und Jugendlichen an einer NAFLD leiden, wäre in der LIFE CHILD-Studienpopulation statistisch gesehen mit 129 Fällen zu rechnen [20]. Demnach wäre es möglich, dass bei einem Teil der positiven Assoziationen zwischen BMI und ALT beziehungsweise GGT bereits eine NAFLD zugrunde liegt.

In Ergänzung zu den Hauptanalysen wurde untersucht, ob Fälle mit hohen ALT-Serumkonzentrationen (> 97ten Perzentile der neuen alters- und geschlechtsspezifischen ALT-Referenzwerte) ein erhöhtes Risiko für das Vorliegen einer fortgeschrittenen Leberfibrose aufweisen. Dabei zeigt sich, dass Kinder und Jugendliche mit auffälligen ALT-Serumkonzentrationen signifikant höhere Punktwerte im Pediatric NAFLD Fibrosis Score (PNFS) erreichen. Dieser Zusammenhang ist stärker als der mathematische Effekt, der aufgrund der Gleichung zu erwarten wäre. Höhere PNFS-Punktwerte gehen mit einem größerem Risiko für das Vorliegen einer fortgeschrittenen Leberfibrose einher [20]. 7,9 % aller übergewichtigen und adipösen Studienteilnehmer*innen präsentieren PNFS-Werte über 8,0 %. In der Gruppe der Übergewichtigen/Adipösen mit ALT-Serumkonzentrationen über der 97ten Perzentile beträgt dieser Anteil 39,0 %. Überraschenderweise zeigen sich auch bei 29,0 % der normalgewichtigen Proband*innen mit ALT-Konzentrationen über der 97ten Perzentile PNFS-Werte über 8,0 %. Bei den Normalgewichtigen mit ALT-Konzentrationen unter der 97ten Perzentile wurde der Grenzwert nicht überschritten. Für übergewichtige und adipöse Kinder und Jugendliche der Studienpopulation liegt demnach ein höheres Risiko für das Vorliegen einer Leberfibrose vor als für normalgewichtige Studienteilnehmer*innen. Ein erhöhtes Risiko scheint allerdings auch für normalgewichtige Proband*innen mit auffälligen ALT-Werten zu bestehen. Da es sich bei dem PNF-Score um ein relativ neues Untersuchungsinstrument handelt, dessen Überlegenheit gegenüber anderen Methoden und dessen Übertragbarkeit auf verschiedene Populationen noch weiter untersucht werden muss, dürfen die Aussagen dieser Analyse nur als

ein vorsichtiger Hinweis auf das Vorliegen eines erhöhten Fibrosesrisikos interpretiert werden [33].

Da in der LIFE CHILD-Kohorte eine Unterrepräsentation sozial-benachteiligter Familien und eine geringe Heterogenität bezüglich der Ethnizität besteht, wurden diese Einflussfaktoren in der vorliegenden Studie nicht analysiert [4, 98]. Diese beiden Einschränkungen müssen bei der Übertragung der Referenzwerte auf andere Populationen berücksichtigt werden. Die Stärke dieser Studie liegt in der Zusammensetzung ihrer Referenzpopulation. Aufgrund der großen Anzahl gesunder und normalgewichtiger Proband*innen und des breiten Altersspektrums, ist die Kohorte hervorragend zur Referenzwerterstellung geeignet. Die Verwendung normierter Assessments und moderner, standardisierter Methoden tragen zu der hohen Qualität der neuen Perzentilen bei. Ein weiteres Herausstellungsmerkmal dieser Studie ist die gesonderte Analyse des Pubertätsstatus.

Schlussfolgerungen: Durch diese Arbeit stehen der Kinder- und Jugendmedizin aktuelle alters- und geschlechtsspezifische Perzentilen für ALT, AST und GGT zur Verfügung. Die drei Transaminasen sind signifikant alters-, geschlechts- und pubertätsspezifisch. Aus diesem Grund sollten alters- und geschlechtsspezifische Referenzwerte zur Interpretation der Serumkonzentrationen von Leberenzymen in der Kinder- und Jugendmedizin herangezogen werden. Die Berücksichtigung des Pubertätsstatus der Patient*innen bei der Beurteilung der Ergebnisse ist zusätzlich zu befürworten. Die AST nimmt unter den untersuchten Transaminasen eine Sonderstellung ein, da sie im Gegensatz zu ALT und GGT negativ mit Alter, Pubertätsstatus und BMI assoziiert ist. Dies sollte bei der Einschätzung von möglichen Leberzellschäden und der Beurteilung von Fibrosescores berücksichtigt werden. GGT und noch deutlicher ALT sind positiv mit dem BMI-SDS assoziiert, was Ausdruck einer Leberaffektion bei Adipositas sein könnte. ALT-Werte über der 97ten Perzentile gehen bei normalgewichtigen Kindern und Jugendlichen, deutlich stärker jedoch bei Übergewichtigen und Adipösen, mit einem erhöhten Risiko für eine Leberfibrose einher. Die im Rahmen dieser Dissertationsarbeit generierten Perzentilen stellen eine gute Grundlage zur Interpretation von Leberenzymen im Kindes- und Jugendalter dar. Dies ermöglicht zukünftig eine Verbesserung des Screenings von Lebererkrankungen mit frühem Manifestationszeitpunkt.

6 Literaturverzeichnis

1. Vajro P, Maddaluno S, Veropalumbo C. Persistent hypertransaminasemia in asymptomatic children: A stepwise approach. *World J Gastroenterol*. 2013;19:2740–51. doi:10.3748/wjg.v19.i18.2740.
2. Brunt EM. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7:195. doi:10.1038/nrgastro.2010.21.
3. Poulain T, Baber R, Vogel M, Pietzner D, Kirsten T, Jurkutat A, et al. The LIFE Child study: a population-based perinatal and pediatric cohort in Germany. *Eur J Epidemiol*. 2017;32:145–58. doi:10.1007/s10654-016-0216-9.
4. Quante M, Hesse M, Döhmert M, Fuchs M, Hirsch C, Sergeyev E, et al. The LIFE child study: a life course approach to disease and health. *BMC Public Health*. 2012;12:1021. doi:10.1186/1471-2458-12-1021.
5. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013;310:2191–4. doi:10.1001/jama.2013.281053.
6. Kess A, Spielau U, Beger C, Gausche R, Vogel M, Lipek T, et al. Further stabilization and even decrease in the prevalence rates of overweight and obesity in German children and adolescents from 2005 to 2015: A cross-sectional and trend analysis. *Public Health Nutr*. 2017;20:3075–83. doi:10.1017/S1368980017002257.
7. Bussler S, Penke M, Flemming G, Elhassan YS, Kratzsch J, Sergeyev E, et al. Novel Insights in the Metabolic Syndrome in Childhood and Adolescence. *Horm Res Paediatr*. 2017;88:181–93. doi:10.1159/000479510.
8. Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P, et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:1113–32. doi:10.1016/j.jacc.2010.05.034.
9. Chiarelli F, Mohn A. Early diagnosis of metabolic syndrome in children. *Lancet Child Adolesc Health*. 2017;1:86–8. doi:10.1016/S2352-4642(17)30043-3.
10. Kiess W, Penke M, Sergeyev E, Neef M, Adler M, Gausche R, Körner A. Childhood obesity at the crossroads. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2015;28:481–4. doi:10.1515/jpem-2015-0168.
11. Marzuillo P, Miraglia Del Giudice E, Santoro N. Pediatric fatty liver disease: Role of ethnicity and genetics. *World J Gastroenterol*. 2014;20:7347–55. doi:10.3748/wjg.v20.i23.7347.
12. Marzuillo P, Del Giudice EM, Santoro N. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: New insights and future directions. *World J Hepatol*. 2014;6:217–25. doi:10.4254/wjh.v6.i4.217.

13. Vajro P, Lenta S, Socha P, Dhawan A, McKiernan P, Baumann U, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: Position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54:700–13. doi:10.1097/MPG.0b013e318252a13f.
14. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2018;67:328–57. doi:10.1002/hep.29367.
15. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64:319–34. doi:10.1097/MPG.0000000000001482.
16. Fang Y-L, Chen H, Wang C-L, Liang L. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From “two hit theory” to “multiple hit model”. *World J Gastroenterol.* 2018;24:2974–83. doi:10.3748/wjg.v24.i27.2974.
17. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften AWMF. S2-Leitlinie Pathologie: Histopathologische Diagnose der nicht-alkoholischen und alkoholischen Fettlebererkrankung AWMF online [Internet]. 2009. [abgerufen am 09.09.2020]. Verfügbar unter: https://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Leitlinien/Evidenzbasierte_Leitlinien/035004_Histopathologische_Diagnose.pdf.
18. Welsh JA, Karpen S, Vos MB. Increasing Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Among United States Adolescents, 1988–1994 to 2007–2010. *J Pediatr.* 2013;162:496–500.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2012.08.043.
19. Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling C. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics.* 2006;118:1388–93. doi:10.1542/peds.2006-1212.
20. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JPT, Lawlor DA, Fraser A. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140908. doi:10.1371/journal.pone.0140908.
21. Goyal NP, Schwimmer JB. The Progression and Natural History of Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis.* 2015;20:325–38. doi:10.1016/j.cld.2015.10.003.

22. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004;40:1387-95. doi:10.1002/hep.20466.
23. Middleton JP, Wiener RC, Barnes BH, Gurka MJ, DeBoer MD. Clinical features of pediatric nonalcoholic fatty liver disease: a need for increased awareness and a consensus for screening. *Clin Pediatr (Phila)*. 2014;53:1318-25. doi:10.1177/0009922813520072.
24. Schwimmer JB, McGreal N, Deutsch R, Finegold MJ, Lavine JE. Influence of gender, race, and ethnicity on suspected fatty liver in obese adolescents. *Pediatrics*. 2005;115:e561-5. doi:10.1542/peds.2004-1832.
25. AlKhater SA. Paediatric non-alcoholic fatty liver disease: an overview. *Obes Rev*. 2015;16:393-405. doi:10.1111/obr.12271.
26. Doycheva I, Watt KD, Alkhouri N. Nonalcoholic fatty liver disease in adolescents and young adults: The next frontier in the epidemic. *Hepatology*. 2017;65:2100-9. doi:10.1002/hep.29068.
27. Feldstein AE, Charatcharoenwithaya P, Treeprasertsuk S, Benson JT, Enders FB, Angulo P. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease in children: a follow-up study for up to 20 years. *Gut*. 2009;58:1538-44. doi:10.1136/gut.2008.171280.
28. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metab Clin Exp*. 2016;65:1038-48. doi:10.1016/j.metabol.2015.12.012.
29. Marzuillo P, Grandone A, Perrone L, Miraglia Del Giudice E. Understanding the pathophysiological mechanisms in the pediatric non-alcoholic fatty liver disease: The role of genetics. *World J Hepatol*. 2015;7:1439-43. doi:10.4254/wjh.v7.i11.1439.
30. Clemente MG, Mandato C, Poeta M, Vajro P. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: Recent solutions, unresolved issues, and future research directions. *World J Gastroenterol*. 2016;22:8078-93. doi:10.3748/wjg.v22.i36.8078.
31. Koot BGP, Nobili V. Screening for non-alcoholic fatty liver disease in children: do guidelines provide enough guidance? *Obes Rev*. 2017;18:1050-60. doi:10.1111/obr.12556.
32. Draijer LG, Feddoui S, Bohte AE, Vd Baan Slootweg O, Pels Rijcken TH, Benninga MA, et al. Comparison of diagnostic accuracy of screening tests ALT and ultrasound for pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Pediatr*. 2019;178(6):863-870. doi:10.1007/s00431-019-03362-3.
33. Alkhouri N, Mansoor S, Giammaria P, Liccardo D, Lopez R, Nobili V. The Development of the Pediatric NAFLD Fibrosis Score (PNFS) to Predict the Presence of Advanced

- Fibrosis in Children with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *PLoS One*. 2014;9(8):e104558. doi:10.1371/journal.pone.0104558.
34. Alkhouri N, Carter-Kent C, Lopez R, Rosenberg WM, Pinzani M, Bedogni G, et al. A combination of the pediatric NAFLD fibrosis index and enhanced liver fibrosis test identifies children with fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011;9:150–5. doi:10.1016/j.cgh.2010.09.015.
 35. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Can Med Assoc J*. 2005;172:367–79. doi:10.1503/cmaj.1040752.
 36. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *Am J Gastroenterol*. 2017;112:18–35. doi:10.1038/ajg.2016.517.
 37. Zierk J, Arzideh F, Haeckel R, Cario H, Frühwald MC, Groß H-J, et al. Pediatric reference intervals for alkaline phosphatase. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55:102–10. doi:10.1515/cclm-2016-0318.
 38. Wanjian G, Jie H, Liang G, Cheng W, Tian X, Jianjiang S, Chunni Z. Establishment of Reference Interval for Alkaline Phosphatase in Healthy Children of Various Ethnicities, Aged 0-12 Years. *Lab Med*. 2017;48:166–71. doi:10.1093/labmed/lmx017.
 39. Liu Z, Que S, Xu J, Peng T. Alanine Aminotransferase-Old Biomarker and New Concept: A Review. *Int J Med Sci*. 2014;11:925–35. doi:10.7150/ijms.8951.
 40. Panteghini M. Aspartate aminotransferase isoenzymes. *Clin Biochem*. 1990;23:311–9. doi:10.1016/0009-9120(90)80062-N.
 41. Heisterkamp N, Groffen J, Warburton D, Sneddon TP. The human gamma-glutamyltransferase gene family. *Hum Genet*. 2008;123:321–32. doi:10.1007/s00439-008-0487-7.
 42. Cabrera-Abreu JC, Green A. Gamma-glutamyltransferase: value of its measurement in paediatrics. *Ann Clin Biochem*. 2002;39:22–5. doi:10.1258/0004563021901685.
 43. Kang K-S. Abnormality on Liver Function Test. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2013;16:225–32. doi:10.5223/pghn.2013.16.4.225.
 44. Fraser A, Longnecker MP, Lawlor DA. Prevalence of elevated alanine aminotransferase among US adolescents and associated factors: NHANES 1999-2004. *Gastroenterology*. 2007;133:1814–20. doi:10.1053/j.gastro.2007.08.077.
 45. Dong MH, Bettencourt R, Barrett-Connor E, Loomba R. Alanine aminotransferase decreases with age: the Rancho Bernardo Study. *PLoS One*. 2010;5:e14254. doi:10.1371/journal.pone.0014254.

46. Elinav E, Ben-Dov IZ, Ackerman E, Kiderman A, Glikberg F, Shapira Y, Ackerman Z. Correlation between serum alanine aminotransferase activity and age: an inverted U curve pattern. *Am J Gastroenterol*. 2005;100:2201–4. doi:10.1111/j.1572-0241.2005.41822.x.
47. Zierk J, Arzideh F, Rechenauer T, Haeckel R, Rascher W, Metzler M, Rauh M. Age- and sex-specific dynamics in 22 hematologic and biochemical analytes from birth to adolescence. *Clin Chem*. 2015;61:964–73. doi:10.1373/clinchem.2015.239731.
48. Dehghani SM, Erjaee A, Haghighat M, Imanieh MH, Ahmadi R. Upper Limits of Normal Aminotransferases in Children of Southern Iran. *J Compr Ped*. 2014;5(1):15274. doi:10.17795/compreped-15274.
49. Estey MP, Cohen AH, Colantonio DA, Chan MK, Marvasti TB, Randell E, et al. CLSI-based transference of the CALIPER database of pediatric reference intervals from Abbott to Beckman, Ortho, Roche and Siemens Clinical Chemistry Assays: direct validation using reference samples from the CALIPER cohort. *Clin Biochem*. 2013;46:1197–219. doi:10.1016/j.clinbiochem.2013.04.001.
50. England K, Thorne C, Pembrey L, Tovo P-A, Newell M-L. Age- and sex-related reference ranges of alanine aminotransferase levels in children: European paediatric HCV network. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;49:71–7. doi:10.1097/MPG.0b013e31818fc63b.
51. Patel DA, Srinivasan SR, Chen W, Berenson GS. Serum alanine aminotransferase and its association with metabolic syndrome in children: the bogalusa heart study. *Metab Syndr Relat Disord*. 2011;9:211–6. doi:10.1089/met.2010.0086.
52. Li X, Di Wang, Yang C, Zhou Q, Zhuoga S-L, Wang L-Q, et al. Establishment of age- and gender-specific pediatric reference intervals for liver function tests in healthy Han children. *World J Pediatr*. 2018;14:151–9. doi:10.1007/s12519-018-0126-x.
53. Johansen MJ, Gade J, Stender S, Frithioff-Bøjsøe C, Lund MAV, Chabanova E, et al. The Effect of Overweight and Obesity on Liver Biochemical Markers in Children and Adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(2),1-13. doi:10.1210/clinem/dgz010.
54. Poustchi H, George J, Esmaili S, Esna-Ashari F, Ardalan G, Sepanlou SG, Alavian SM. Gender Differences in Healthy Ranges for Serum Alanine Aminotransferase Levels in Adolescence. *PLoS One*. 2011;6(6):e21178. doi:10.1371/journal.pone.0021178.
55. Schwimmer JB, Dunn W, Norman GJ, Pardee PE, Middleton MS, Kerkar N, Sirlin CB. SAFETY study: alanine aminotransferase cutoff values are set too high for reliable detection of pediatric chronic liver disease. *Gastroenterology*. 2010;138:1357-64, 1364.e1-2. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.052.
56. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child*. 1969;44:291–303. doi:10.1136/ad.44.235.291.

57. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the Pattern of Pubertal Changes in Boys. *Arch Dis Child.* 1970;45:13–23. doi:10.1136/adsc.45.239.13.
58. Suzuki A, Abdelmalek MF, Schwimmer JB, Lavine JE, Scheimann AO, Unalp-Arida A, et al. Association between puberty and features of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10:786–94. doi:10.1016/j.cgh.2012.01.020.
59. Ding Z, Zhang J, Deng C-Y, You Y-B, Zhou H. Association of body mass index with serum alanine aminotransferase in Chinese adolescents: a school-based cross-sectional study. *Gastroenterol Rep (Oxf).* 2020;8:119–24. doi:10.1093/gastro/goz039.
60. Ahn MB, Bae WR, Han KD, Cho WK, Cho KS, Park SH, et al. Association between serum alanine aminotransferase level and obesity indices in Korean adolescents. *Korean J Pediatr.* 2015;58:165–71. doi:10.3345/kjp.2015.58.5.165.
61. Kelishadi R, Cook SR, Adibi A, Faghihimani Z, Ghatrehsamani S, Beihaghi A, et al. Association of the components of the metabolic syndrome with non-alcoholic fatty liver disease among normal-weight, overweight and obese children and adolescents. *Diabetol Metab Syndr.* 2009;1:29. doi:10.1186/1758-5996-1-29.
62. Lee SY, Sung E, Chang Y. Elevated serum gamma-glutamyltransferase is a strong marker of insulin resistance in obese children. *Int J Endocrinol.* 2013;2013:578693. doi:10.1155/2013/578693.
63. Lee K, Yang JH. Which liver enzymes are better indicators of metabolic syndrome in adolescents: the Fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey, 2010. *Metab Syndr Relat Disord.* 2013;11:229–35. doi:10.1089/met.2012.0153.
64. Giorgio V, Prono F, Graziano F, Nobili V. Pediatric non alcoholic fatty liver disease: old and new concepts on development, progression, metabolic insight and potential treatment targets. *BMC Pediatr.* 2013;13:40. doi:10.1186/1471-2431-13-40.
65. Kaushik GG, Sharm S, Sharma R, Mittal P. Association between gamma glutamyl transferase and insulin resistance markers in healthy obese children. *J Assoc Physicians India.* 2009;57:695–8. PMID:20329426.
66. Botton J, Heude B, André P, Bresson JL, Ducimetière P, et al. Relationship between gamma-glutamyltransferase and fat mass in a general population of 8-17 years old children. The FLVS II study. *Diabetes Metab.* 2007;33:354–359. doi:10.1016/j.diabet.2007.03.008.
67. Kong APS, Choi KC, Ho CS, Chan MHM, Ozaki R, Chan CWH, Chan JCN. Associations of uric acid and gamma-glutamyltransferase (GGT) with obesity and components of metabolic syndrome in children and adolescents. *Pediatr Obes.* 2013;8:351–7. doi:10.1111/j.2047-6310.2012.00115.x.

68. Bobrus-Chociej A, Flisiak-Jackiewicz M, Daniluk U, Wojtkowska M, Klusek-Oksiuta M, Tarasow E, Lebensztejn D. Estimation of gamma-glutamyl transferase as a suitable simple biomarker of the cardiovascular risk in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Acta Biochim Pol.* 2018;65:539–44. doi:10.18388/abp.2018_2611.
69. Fraser A, Harris R, Sattar N, Ebrahim S, Smith GD, Lawlor DA. Gamma-glutamyltransferase is associated with incident vascular events independently of alcohol intake: analysis of the British Women's Heart and Health Study and Meta-Analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:2729–35. doi:10.1161/ATVBAHA.107.152298.
70. Choi KM, Han K, Park S, Chung HS, Kim NH, Yoo HJ, et al. Implication of liver enzymes on incident cardiovascular diseases and mortality: A nationwide population-based cohort study. *Sci Rep.* 2018;8(1):3764. doi:10.1038/s41598-018-19700-8.
71. Schwimmer JB, Newton KP, Awai HI, Choi LJ, Garcia MA, Ellis LL, et al. Paediatric gastroenterology evaluation of overweight and obese children referred from primary care for suspected non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38:1267–77. doi:10.1111/apt.12518.
72. Molleston JP, Schwimmer JB, Yates KP, Murray KF, Cummings OW, Lavine JE, et al. Histological abnormalities in children with nonalcoholic fatty liver disease and normal or mildly elevated alanine aminotransferase levels. *J Pediatr.* 2014;164:707-713.e3. doi:10.1016/j.jpeds.2013.10.071.
73. Delvin E, Patey N, Dubois J, Henderson M, Lévy É. Pediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *J Med Biochem.* 2015;34:3–12. doi:10.2478/jomb-2014-0059.
74. Hadizadeh F, Faghihimani E, Adibi P. Nonalcoholic fatty liver disease: Diagnostic biomarkers. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2017;8:11–26. doi:10.4291/wjgp.v8.i2.11.
75. Sert A, Pirgon O, Aypar E, Yilmaz H, Dundar B. Relationship between aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index and carotid intima-media thickness in obese adolescents with non-alcoholic fatty liver disease. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2013;5:182–8. doi:10.4274/Jcrpe.891.
76. Franzini M, Fornaciari I, Fierabracci V, Elawadi HA, Bolognesi V, Maltinti S, et al. Accuracy of b-GGT fraction for the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2012;32:629–34. doi:10.1111/j.1478-3231.2011.02673.x.
77. Temple JL, Cordero P, Li J, Nguyen V, Oben JA. A Guide to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Childhood and Adolescence. *Int J Mol Sci.* 2016;17(6):947. doi:10.3390/ijms17060947.
78. Obika M, Noguchi H. Diagnosis and evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *Exp Diabetes Res.* 2012;2012:145754. doi:10.1155/2012/145754.

79. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, Daly CH, Brinc D, Venner AA, et al. Closing the gaps in pediatric laboratory reference intervals: a CALIPER database of 40 biochemical markers in a healthy and multiethnic population of children. *Clin Chem*. 2012;58:854–68. doi:10.1373/clinchem.2011.177741.
80. Boyd JC. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition: CLSI document EP28-A3c [Internet]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. [abgerufen am 09.09.2020]. Verfügbar unter: https://clsi.org/media/1421/ep28a3c_sample.pdf.
81. Vogel M. A Combined Approach to Generate Age & Sex Dependent Reference Intervals in Pediatrics [Dissertation]: Universität Leipzig, Medizinische Fakultät. Leipzig; 2018.
82. Dortsch R, Schaffrath Rosario A et al. (2009) Bevölkerungsbezogene Verteilungswerte ausgewählter Laborparameter aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS). Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Robert Koch-Institut [Internet]. Berlin. 2009. [abgerufen am 09.09.2020]. Verfügbar unter: https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsB/KiGGS_Laborparameter.pdf?__blob=publicationFile.
83. Neuhauser H, Schienkiewitz A, Schaffrath-Rosario A, Dortsch R, Kurth BM. Referenzperzentile für anthropometrische Maßzahlen und Blutdruck aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS). 2., erweiterte Auflage, Robert Koch-Institut [Internet]. Berlin. 2013. [abgerufen am 09.09.2020]. Verfügbar unter: https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsB/KiGGS_Referenzperzentile.pdf?__blob=publicationFile.
84. Ozarda Y. Reference intervals: current status, recent developments and future considerations. *Biochem Med (Zagreb)*. 2016;26:5–11. doi:10.11613/BM.2016.001.
85. Adeli K. Closing the gaps in pediatric reference intervals: the CALIPER initiative. *Clin Biochem*. 2011;44:480–2. doi:10.1016/j.clinbiochem.2011.02.017.
86. World Health Organization. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development [Internet]. Geneva: World Health Organization. 2006. [abgerufen am 09.09.2020]. Verfügbar unter: https://www.who.int/childgrowth/standards/technical_report/en/.
87. Cole TJ, Green PJ. Smoothing reference centile curves: the LMS method and penalized likelihood. *Stat Med*. 1992;11:1305–19. doi:10.1002/sim.4780111005.

88. Dathan-Stumpf A, Vogel M, Hiemisch A, Thiery J, Burkhardt R, Kratzsch J, Kiess W. Pediatric reference data of serum lipids and prevalence of dyslipidemia: Results from a population-based cohort in Germany. *Clin Biochem.* 2016;49:740–9. doi:10.1016/j.clinbiochem.2016.02.010.
89. Rieger K, Vogel M, Engel C, Ceglarek U, Thiery J, Kratzsch J, et al. Reference intervals for iron-related blood parameters: results from a population-based cohort study (LIFE Child). *LaboratoriumsMedizin.* 2016;40:559. doi:10.1515/labmed-2016-0019.
90. NCCLS. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Second Edition. NCCLS document C28-A2 [Internet]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898. USA 2000. [abgerufen am 09.09.2020]. Verfügbar unter: http://www.zxyjhjy.com/upload/attached/file/20170406/20170406120112_8797.pdf.
91. Isojima T, Shimatsu A, Yokoya S, Chihara K, Tanaka T, Hizuka N, et al. Standardized centile curves and reference intervals of serum insulin-like growth factor-I (IGF-I) levels in a normal Japanese population using the LMS method. *Endocr J.* 2012;59:771–80. doi:10.1507/endocrj.ej12-0110.
92. Bidlingmaier M, Friedrich N, Emeny RT, Spranger J, Wolthers OD, Roswall J, et al. Reference intervals for insulin-like growth factor-1 (igf-i) from birth to senescence: results from a multicenter study using a new automated chemiluminescence IGF-I immunoassay conforming to recent international recommendations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:1712–21. doi:10.1210/jc.2013-3059.
93. Whittington PF, Alonso EM, Piper JB. Pediatric liver transplantation. *Semin Liver Dis.* 1994;14:303–17. doi:10.1055/s-2007-1007320.
94. Christensen KY, Maisonet M, Rubin C, Flanders WD, Drews-Botsch C, Dominguez C, et al. Characterization of the correlation between ages at entry into breast and pubic hair development. *Ann Epidemiol.* 2010;20:405–8. doi:10.1016/j.annepidem.2010.02.005.
95. Safak AA, Simsek E, Bahcebasi T. Sonographic assessment of the normal limits and percentile curves of liver, spleen, and kidney dimensions in healthy school-aged children. *J Ultrasound Med.* 2005;24:1359–64. doi:10.7863/jum.2005.24.10.1359.
96. Loomba-Albrecht LA, Styne DM. Effect of puberty on body composition. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2009;16:10–5. doi:10.1097/med.0b013e328320d54c.
97. Galloway PJ, Donaldson MD, Wallace AM. Sex hormone binding globulin concentration as a prepubertal marker for hyperinsulinaemia in obesity. *Arch Dis Child.* 2001;85:489–91. doi:10.1136/ad.85.6.489.

98. Poulain T, Vogel M, Sobek C, Hilbert A, Körner A, Kiess W. Associations Between Socio-Economic Status and Child Health: Findings of a Large German Cohort Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(5):677. doi:10.3390/ijerph16050677.

IV Anlagen

IV. A Anlagen zur Dissertation

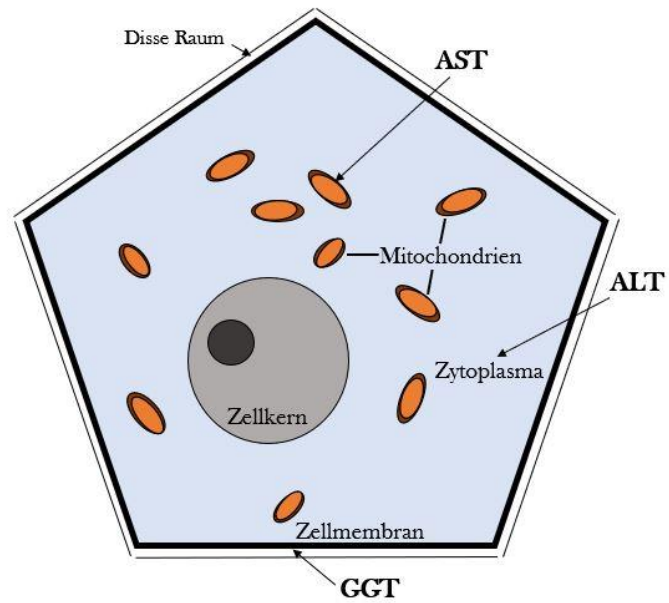


Abbildung 1. Schematische Darstellung eines Hepatozyten: vorwiegende Lokalisationen von ALT, AST und GGT.

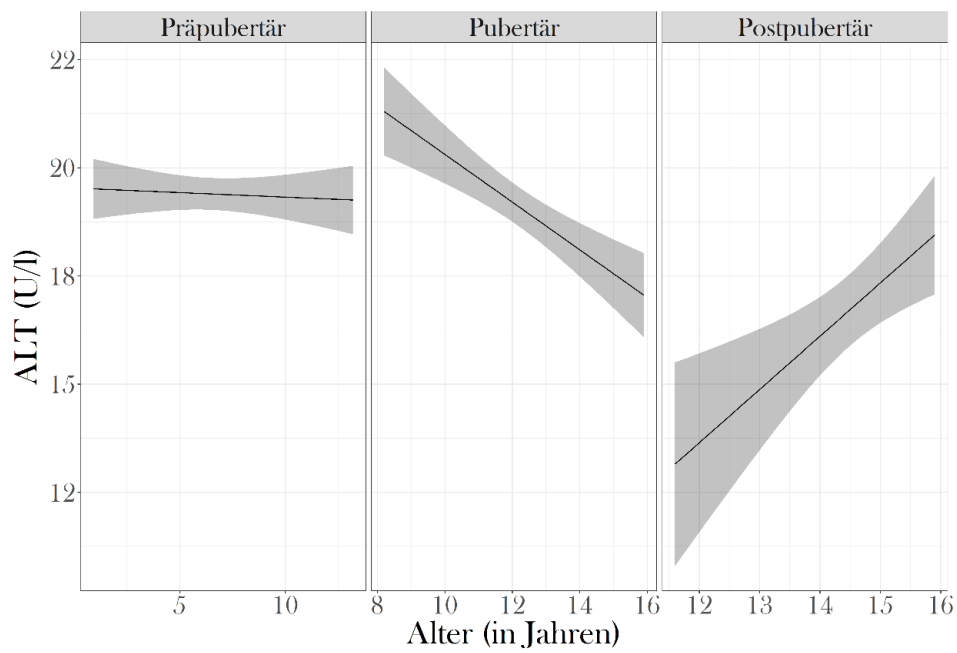


Abbildung 2. Darstellung des Zusammenhangs zwischen ALT (Alanin-Aminotransferase) und Alter unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen Alter und Pubertätsstatus. Präpubertär: Tanner Stadium 1, pubertär: Tanner Stadium 2 - 4, postpubertär: Tanner Stadium 5.

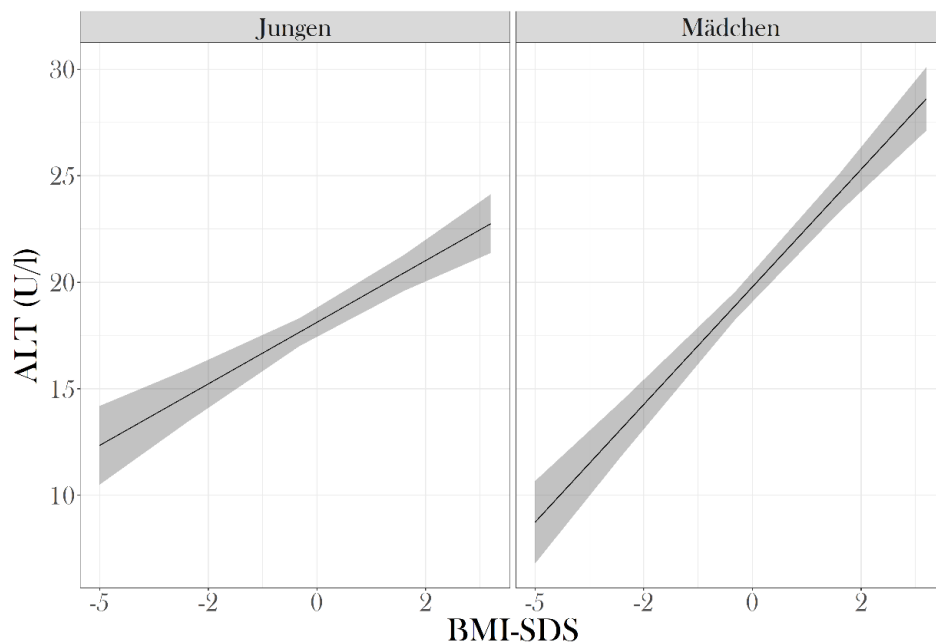


Abbildung 3. Darstellung des Zusammenhangs zwischen ALT (Alanin-Aminotransferase) und BMI-SDS unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen BMI-SDS und Geschlecht.

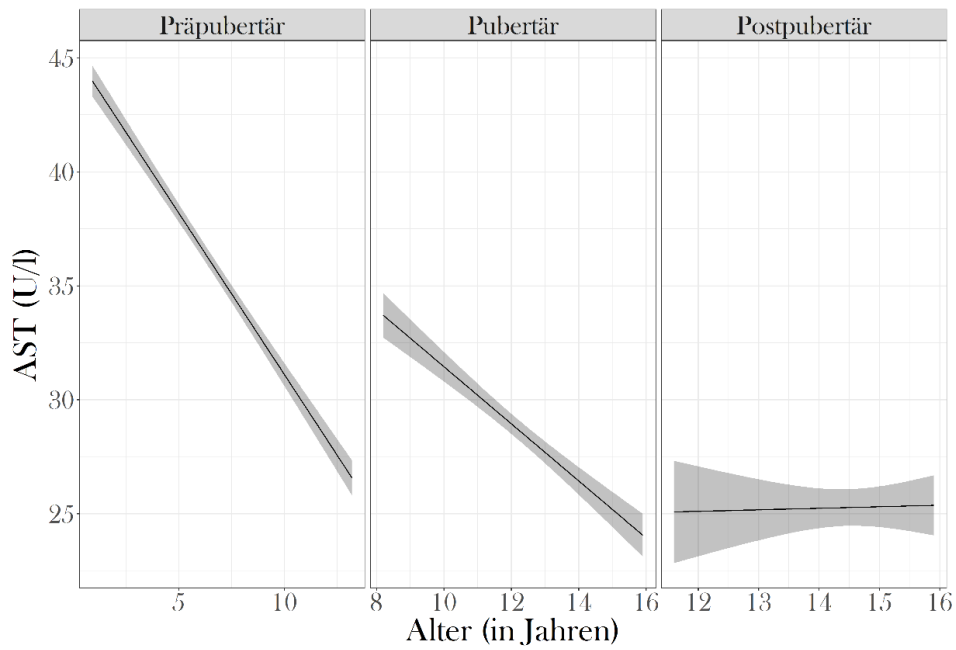


Abbildung 4. Darstellung des Zusammenhangs zwischen AST (Aspartat-Aminotransferase) und Alter unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen Alter und Pubertätsstatus. Präpubertär: Tanner Stadium 1, pubertär: Tanner Stadium 2 – 4, postpubertär: Tanner Stadium 5.

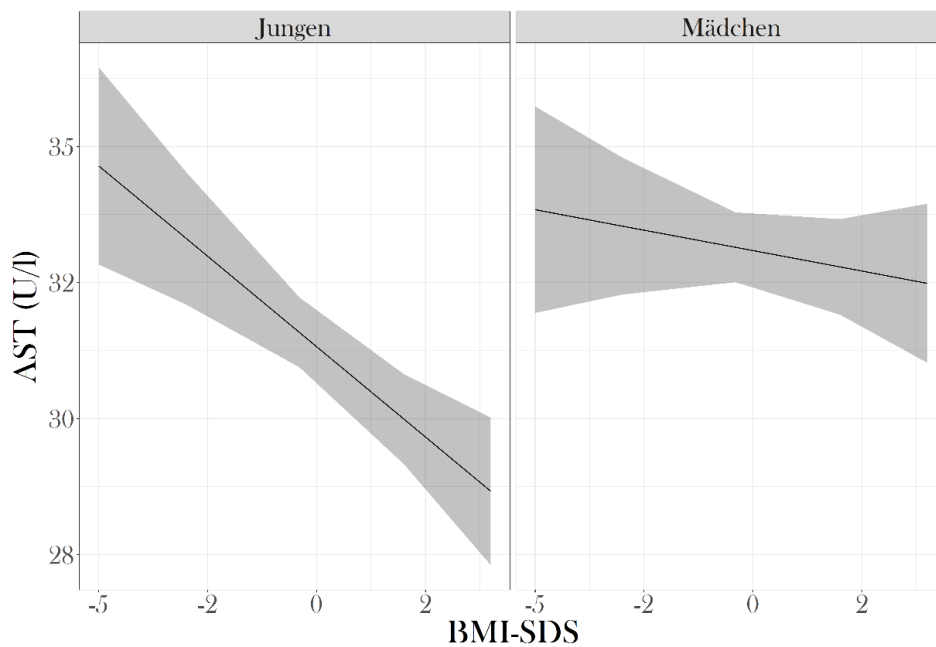


Abbildung 5. Darstellung des Zusammenhangs zwischen AST (Aspartat-Aminotransferase) und BMI-SDS unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen BMI-SDS und Geschlecht.

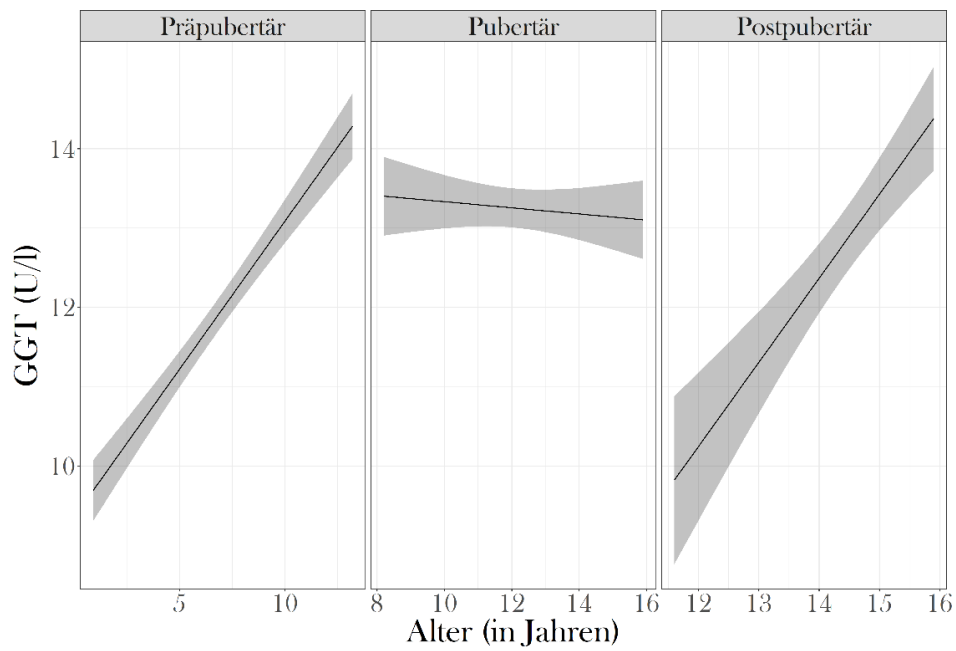


Abbildung 6. Darstellung des Zusammenhangs zwischen GGT (Gamma-Glutamyltransferase) und Alter unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen Alter und Pubertätsstatus. Präpubertär: Tanner Stadium 1, pubertär: Tanner Stadium 2 - 4, postpubertär: Tanner Stadium 5.

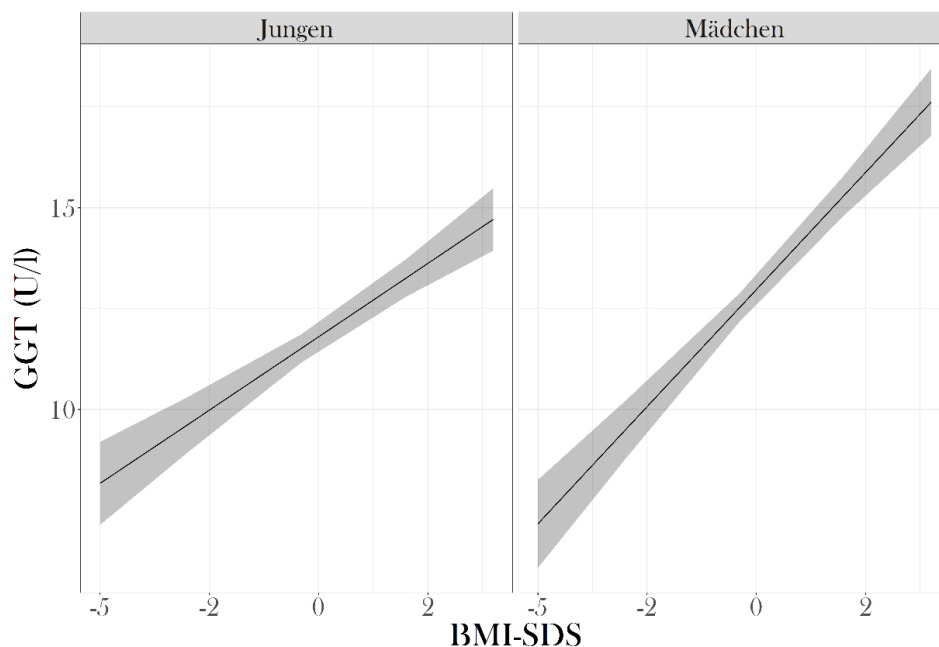


Abbildung 7. Darstellung des Zusammenhangs zwischen GGT (Gamma-Glutamyltransferase) und BMI-SDS unter Berücksichtigung der Interaktion zwischen BMI-SDS und Geschlecht.

IV. B Ergänzungsmaterial zur wissenschaftlichen Publikation

Tabelle 1. Liste potenziell hepatotoxischer Medikamente [55].		
Abacavir Sulfate	Flutamide	Phenazopyridine Hydrochloride
Acetaminophen	Fluvastatin Sodium	Phenytoin Sodium
Allopurinol	Glimepiride	Pilocarpine Hydrochloride
Amiodarone Hydrochloride	Glipizide	Pravastatin Sodium
Amoxicillin	Glyburide	Probenecid
Amoxicillin Trihydrate; Clavulanate	Indinavir Sulfate	Progesterone
Potassium	Isoniazid	Propylthiouracil
Atorvastatin Calcium	Itraconazole	Pyrazinamide
Azathioprine	Ketoconazole	Quinine Sulfate
Bicalutamide	Labetalol Hydrochloride	Repaglinide
Bromocriptine Mesylate	Lamivudine	Rifabutin
Carbamazepine	Leflunomide	Ritonavir
Carbidopa; Levodopa	Leucovorin Calcium	Rivastigmine Tartrate
Cerivastatin Sodium	Lovastatin	Saquinavir
Chlorpropamide	Medroxyprogesterone Acetate	Simvastatin
Chlorzoxazone	Megestrol Acetate	Stavudine
Cholesterol Lowering Drug - Unspecified	Nomegestrol and Estradiol	Sulfamethoxazole
Clotrimazole	Mesalamine	Sulfasalazine
Colchicine	Mestranol; Norethindrone	Tamoxifen Citrate
Desogestrel; Ethinyl Estradiol	Methimazole	Terbinafine Hydrochloride
Diclofenac	Methotrexate Sodium	Testosterone
Didanosine	Methyldopa	Tetracycline Hydrochloride
Divalproex Sodium	Minocycline Hydrochloride	Tizanidine Hydrochloride
Efavirenz	Montelukast Sodium	Tolazamide
Erythromycin	Nabumetone	Tretinoin
Estrogen	Niacin	Trimethoprim
Estrogen and Progesteron	Nitrofurantoin	Troglitazone
Ethambutol Hydrochloride	Norethindrone	Valproic Acid
Fenofibrate	Olanzapine	Zafirlukast
Fluconazole	Pemoline	Zidovudine
Fluorouracil	Permethrin	

Tabelle 2a. BMI-Verteilung in der LIFE CHILD-Studienpopulation (N = 4126).					
	ALLE	Jungen		Mädchen	
BMI-Gruppe* N (%)	4126 (100)	2173 (52,7)		1953 (47,3)	
Untergewicht	314 (7,6)	173 (8,0)		141 (7,2)	
Normalgewicht	3131 (75,9)	1664 (76,6)		1467 (75,1)	
Übergewicht	304 (7,4)	150 (6,9)		154 (7,9)	
Adipositas	377 (9,1)	186 (8,5)		191 (9,8)	
Tabelle 2b. Charakteristika der LIFE CHILD-Referenzpopulation (N = 3131).					
	ALLE	Jungen		Mädchen	
N (%)	3131 (100)	1664 (53,1)		1467 (46,9)	
Pubertätsstadium** N (%)	2537 (100)	1199 (47,3)		1338 (52,7)	
Präpubertär	1621 (63,9)	838 (69,9)		783 (58,5)	
Pubertär	762 (30,0)	315 (26,3)		447 (33,4)	
Postpubertär	154 (6,1)	46 (3,8)		108 (8,1)	
		X (s.d.)	M	X (s.d.)	M
Alter (Jahre)		9,0 (4,2)	9,3	8,9 (4,1)	9,1
BMI-SDS		-0,1 (0,6)	-0,1	-0,0 (0,7)	-0,0
ALT (U/L)		18,9 (6,2)	18,0	17,7 (5,2)	16,8
AST (U/L)		33,8 (8,4)	32,4	32,3 (8,5)	31,8
GGT (U/L)		12,5 (4,2)	12,0	11,3 (2,9)	10,8
AP (U/L)		250,1 (133,6)	234,0	218,2 (80,9)	220,2
Thrombozyten (10*9/L)		289,1 (69,8)	281,0	299,0 (70,4)	293,0
<p>* BMI-Gruppe: Untergewicht (BMI < 10ter Perzentile), Normalgewicht (BMI ≥ 10ter und ≤ 90ter Perzentile), Übergewicht (BMI > 90ter und ≤ 97ter Perzentile), Adipositas (BMI > 97ter Perzentile); N: Fallzahl; ** Pubertätsstadium: Präpubertär (Tanner Stadium 1), Pubertär (Tanner Stadium 2 - 4), Postpubertär (Tanner Stadium 5); X = Mittelwert; s.d. = Standardabweichung; M = Median; BMI-SDS = Body Mass Index-Standard Deviation Score; ALT = Alanin-Aminotransferase, AST = Aspartat-Aminotransferase; GGT = Gamma-Glutamyltransferase; AP = Alkalische Phosphatase; Alter der Kinder und Jugendlichen: elf Monate bis 16 Jahre.</p>					

Tabelle 3. Referenzwerte der ALT-Perzentilen (U/l) als Funktion von Alter (elf Monate bis 16 Jahre) und Geschlecht. (Referenzpopulation, N = 3131).									
Geschlecht	Alter (Jahre)	3te	10te	50te	90te	97te	Sigma	Nu	Tau
Jungen	1,0	13,0	15,5	21,1	29,7	38,0	21,1	0,3	-0,4
	1,5	12,3	14,7	20,1	28,5	36,4	20,1	0,3	-0,3
	2,0	11,6	14,0	19,3	27,4	35,0	19,3	0,3	-0,3
	2,5	11,1	13,4	18,6	26,5	33,8	18,6	0,3	-0,3
	3,0	10,7	13,0	18,0	25,8	32,8	18,0	0,3	-0,2
	3,5	10,4	12,6	17,7	25,3	32,0	17,7	0,3	-0,2
	4,0	10,2	12,4	17,4	24,9	31,4	17,4	0,3	-0,2
	4,5	10,0	12,3	17,3	24,7	31,0	17,3	0,3	-0,1
	5,0	10,0	12,2	17,2	24,5	30,7	17,2	0,3	-0,1
	5,5	10,0	12,2	17,1	24,4	30,5	17,1	0,3	-0,1
	6,0	10,0	12,2	17,1	24,3	30,4	17,1	0,3	-0,2
	6,5	10,1	12,2	17,0	24,2	30,2	17,0	0,3	-0,2
	7,0	10,2	12,3	17,0	24,1	30,1	17,0	0,3	-0,2
	7,5	10,3	12,3	17,0	24,1	29,9	17,0	0,3	-0,2
	8,0	10,5	12,5	17,1	24,1	29,9	17,1	0,3	-0,3
	8,5	10,7	12,6	17,2	24,3	30,0	17,2	0,3	-0,3
	9,0	10,9	12,8	17,5	24,5	30,3	17,5	0,3	-0,3
	9,5	11,2	13,1	17,7	24,9	30,8	17,7	0,3	-0,4
	10,0	11,4	13,3	18,0	25,4	31,3	18,0	0,3	-0,4
	10,5	11,7	13,5	18,3	25,7	31,8	18,3	0,3	-0,4
	11,0	11,8	13,7	18,4	26,0	32,1	18,4	0,3	-0,4
	11,5	11,8	13,7	18,5	26,1	32,3	18,5	0,3	-0,5
	12,0	11,8	13,6	18,4	26,0	32,2	18,4	0,3	-0,5
	12,5	11,7	13,5	18,2	25,9	32,0	18,2	0,3	-0,5
	13,0	11,5	13,3	18,0	25,7	31,8	18,0	0,3	-0,5
	13,5	11,3	13,1	17,8	25,5	31,7	17,8	0,3	-0,5
	14,0	11,1	12,9	17,6	25,5	31,8	17,6	0,3	-0,5
	14,5	10,9	12,7	17,5	25,6	32,1	17,5	0,3	-0,5
	15,0	10,8	12,5	17,4	25,7	32,5	17,4	0,3	-0,5
	15,5	10,6	12,3	17,2	25,8	33,0	17,2	0,3	-0,5
	16,0	10,4	12,1	17,1	26,0	33,5	17,1	0,3	-0,5
Mädchen	1,0	11,2	14,5	20,3	26,9	31,7	20,3	0,3	0,5
	1,5	11,0	14,0	19,4	25,6	30,1	19,4	0,3	0,5
	2,0	10,8	13,6	18,6	24,5	28,7	18,6	0,2	0,5
	2,5	10,7	13,2	18,0	23,6	27,5	18,0	0,2	0,5
	3,0	10,6	13,0	17,5	22,9	26,5	17,5	0,2	0,4

	3,5	10,5	12,8	17,3	22,4	25,9	17,3	0,2	0,4
	4,0	10,5	12,8	17,1	22,2	25,5	17,1	0,2	0,4
	4,5	10,6	12,8	17,1	22,2	25,5	17,1	0,2	0,4
	5,0	10,6	12,8	17,2	22,3	25,6	17,2	0,2	0,4
	5,5	10,7	12,9	17,3	22,5	25,9	17,3	0,2	0,4
	6,0	10,6	12,9	17,4	22,8	26,3	17,4	0,2	0,4
	6,5	10,6	12,9	17,5	23,1	26,8	17,5	0,2	0,4
	7,0	10,6	12,9	17,6	23,5	27,4	17,6	0,2	0,3
	7,5	10,5	12,8	17,7	23,9	28,1	17,7	0,3	0,3
	8,0	10,4	12,8	17,7	24,2	28,7	17,7	0,3	0,2
	8,5	10,4	12,7	17,7	24,5	29,4	17,7	0,3	0,1
	9,0	10,4	12,7	17,7	24,7	30,0	17,7	0,3	0,0
	9,5	10,5	12,7	17,7	24,9	30,6	17,7	0,3	-0,1
	10,0	10,5	12,6	17,6	25,0	31,1	17,6	0,3	-0,2
	10,5	10,5	12,6	17,4	24,9	31,3	17,4	0,3	-0,3
	11,0	10,5	12,5	17,2	24,7	31,1	17,2	0,3	-0,3
	11,5	10,4	12,3	16,9	24,2	30,5	16,9	0,3	-0,4
	12,0	10,2	12,1	16,5	23,4	29,6	16,5	0,3	-0,4
	12,5	10,0	11,8	16,0	22,6	28,5	16,0	0,3	-0,4
	13,0	9,7	11,4	15,5	21,8	27,4	15,5	0,3	-0,4
	13,5	9,5	11,1	15,0	21,1	26,4	15,0	0,3	-0,4
	14,0	9,2	10,8	14,7	20,6	25,7	14,7	0,3	-0,4
	14,5	9,0	10,6	14,4	20,2	25,1	14,4	0,3	-0,3
	15,0	8,9	10,5	14,2	19,9	24,7	14,2	0,3	-0,3
	15,5	8,8	10,4	14,1	19,7	24,4	14,1	0,3	-0,3
	16,0	8,7	10,3	14,0	19,6	24,2	14,0	0,3	-0,2
Dargestellt sind die 3te, 10te, 50te (Median = Mu), 90te und 97te Perzentile sowie Variabilität (Sigma), Schiefe (Nu) und Kurtosis (Tau) für Jungen und Mädchen zwischen elf Monaten und 16 Jahren. Diese Angaben entsprechen interpolierten Werten. N = Fallzahl.									

Tabelle 4. Referenzwerte der AST-Perzentilen (U/l) als Funktion von Alter (elf Monate bis 16 Jahre) und Geschlecht. (Referenzpopulation N = 3131).									
Geschlecht	Alter (Jahre)	3te	10te	50te	90te	97te	Sigma	Nu	Tau
Jungen	1,0	35,4	39,4	47,6	59,1	68,7	47,6	0,2	-0,6
	1,5	35,1	39,0	47,2	58,6	68,0	47,2	0,2	-0,6
	2,0	33,5	37,1	44,8	55,5	64,2	44,8	0,2	-0,6
	2,5	32,0	35,5	42,7	52,8	60,9	42,7	0,2	-0,6
	3,0	30,8	34,1	41,0	50,6	58,1	41,0	0,2	-0,6
	3,5	29,9	33,0	39,6	48,8	55,9	39,6	0,2	-0,6
	4,0	29,1	32,1	38,5	47,4	54,1	38,5	0,2	-0,6
	4,5	28,5	31,4	37,7	46,3	52,8	37,7	0,2	-0,6
	5,0	27,9	30,8	37,0	45,5	51,8	37,0	0,2	-0,6
	5,5	27,4	30,2	36,4	44,8	50,9	36,4	0,2	-0,6
	6,0	26,9	29,7	35,8	44,1	50,2	35,8	0,2	-0,5
	6,5	26,3	29,1	35,2	43,4	49,5	35,2	0,2	-0,5
	7,0	25,8	28,5	34,6	42,8	48,8	34,6	0,2	-0,5
	7,5	25,2	27,9	34,0	42,1	48,1	34,0	0,2	-0,5
	8,0	24,6	27,4	33,4	41,5	47,4	33,4	0,2	-0,4
	8,5	24,2	26,9	32,9	41,0	46,7	32,9	0,2	-0,4
	9,0	23,8	26,5	32,5	40,5	46,1	32,5	0,2	-0,4
	9,5	23,5	26,2	32,2	40,1	45,5	32,2	0,2	-0,3
	10,0	23,3	26,0	31,9	39,7	44,9	31,9	0,2	-0,3
	10,5	23,2	25,8	31,6	39,3	44,3	31,6	0,2	-0,2
	11,0	22,9	25,5	31,3	38,8	43,6	31,3	0,2	-0,2
	11,5	22,6	25,1	30,9	38,3	43,0	30,9	0,2	-0,2
	12,0	22,1	24,6	30,4	37,7	42,4	30,4	0,2	-0,1
	12,5	21,6	24,1	29,8	37,2	41,9	29,8	0,2	-0,1
	13,0	21,0	23,5	29,3	36,8	41,6	29,3	0,2	-0,1
	13,5	20,3	22,9	28,7	36,4	41,5	28,7	0,2	-0,2
	14,0	19,6	22,2	28,1	36,0	41,6	28,1	0,2	-0,2
	14,5	18,9	21,6	27,5	35,7	41,7	27,5	0,2	-0,2
	15,0	18,2	20,9	26,9	35,4	42,0	26,9	0,2	-0,3
	15,5	17,6	20,4	26,3	35,0	42,3	26,3	0,2	-0,4
	16,0	17,1	19,8	25,7	34,6	42,7	25,7	0,2	-0,5
Mädchen	1,0	34,1	37,4	46,1	57,0	62,9	46,1	0,2	-0,1
	1,5	32,8	35,8	43,8	53,7	58,9	43,8	0,2	-0,1
	2,0	31,5	34,4	41,8	50,9	55,6	41,8	0,2	0,0
	2,5	30,4	33,1	40,1	48,6	52,9	40,1	0,1	0,0
	3,0	29,5	32,1	38,8	46,8	50,8	38,8	0,1	0,1

	3,5	28,8	31,3	37,8	45,5	49,4	37,8	0,1	0,1
	4,0	28,3	30,8	37,1	44,7	48,5	37,1	0,1	0,1
	4,5	28,0	30,4	36,6	44,1	47,9	36,6	0,1	0,0
	5,0	27,7	30,1	36,2	43,6	47,4	36,2	0,1	0,0
	5,5	27,4	29,7	35,7	43,0	46,9	35,7	0,1	-0,1
	6,0	27,0	29,3	35,1	42,3	46,3	35,1	0,1	-0,2
	6,5	26,5	28,8	34,4	41,6	45,8	34,4	0,1	-0,3
	7,0	26,0	28,3	33,8	41,0	45,3	33,8	0,1	-0,4
	7,5	25,5	27,8	33,2	40,5	45,0	33,2	0,1	-0,5
	8,0	25,0	27,3	32,7	40,0	44,9	32,7	0,2	-0,5
	8,5	24,4	26,7	32,2	39,6	44,7	32,2	0,2	-0,6
	9,0	23,9	26,2	31,6	39,3	44,5	31,6	0,2	-0,6
	9,5	23,3	25,6	31,2	38,9	44,2	31,2	0,2	-0,6
	10,0	22,7	25,0	30,6	38,4	43,7	30,6	0,2	-0,5
	10,5	21,9	24,3	30,0	37,8	43,0	30,0	0,2	-0,4
	11,0	21,1	23,5	29,2	36,9	41,9	29,2	0,2	-0,3
	11,5	20,2	22,5	28,2	35,8	40,5	28,2	0,2	-0,3
	12,0	19,3	21,5	27,1	34,5	39,1	27,1	0,2	-0,2
	12,5	18,4	20,6	26,0	33,2	37,6	26,0	0,2	-0,2
	13,0	17,6	19,7	25,0	32,1	36,4	25,0	0,2	-0,2
	13,5	16,9	19,0	24,2	31,2	35,6	24,2	0,2	-0,2
	14,0	16,5	18,6	23,7	30,6	35,2	23,7	0,2	-0,3
	14,5	16,2	18,3	23,3	30,4	35,3	23,3	0,2	-0,3
	15,0	16,1	18,2	23,1	30,4	35,7	23,1	0,2	-0,4
	15,5	16,1	18,2	23,1	30,5	36,4	23,1	0,2	-0,6
	16,0	16,1	18,2	23,1	30,8	37,3	23,1	0,2	-0,7
Dargestellt sind die 3te, 10te, 50te (Median = Mu), 90te und 97te Perzentile sowie Variabilität (Sigma), Schiefe (Nu) und Kurtosis (Tau) für Jungen und Mädchen zwischen elf Monaten und 16 Jahren. Diese Angaben entsprechen interpolierten Werten. N = Fallzahl.									

Tabelle 5. Referenzwerte der GGT-Perzentilen (U/l) als Funktion von Alter (elf Monate bis 16 Jahre) und Geschlecht. (Referenzpopulation, N = 3131).

Geschlecht	Alter (Jahre)	3te	10te	50te	90te	97te	Sigma	Nu	Tau
Jungen	1,0	5,8	7,0	9,4	12,2	14,1	9,4	0,2	0,4
	1,5	5,8	7,0	9,4	12,2	14,1	9,4	0,2	0,3
	2,0	5,9	7,1	9,5	12,5	14,4	9,5	0,2	0,3
	2,5	6,0	7,2	9,7	12,7	14,7	9,7	0,2	0,3
	3,0	6,1	7,3	9,8	12,9	15,1	9,8	0,2	0,3
	3,5	6,2	7,5	10,0	13,1	15,4	10,0	0,2	0,3
	4,0	6,2	7,6	10,2	13,4	15,7	10,2	0,2	0,2
	4,5	6,3	7,7	10,3	13,6	16,1	10,3	0,2	0,2
	5,0	6,4	7,8	10,5	13,8	16,4	10,5	0,2	0,2
	5,5	6,5	7,9	10,6	14,1	16,8	10,6	0,2	0,2
	6,0	6,6	8,1	10,8	14,3	17,2	10,8	0,2	0,1
	6,5	6,7	8,2	11,0	14,6	17,6	11,0	0,2	0,1
	7,0	6,8	8,3	11,2	14,8	18,0	11,2	0,2	0,1
	7,5	6,9	8,5	11,3	15,1	18,4	11,3	0,2	0,1
	8,0	7,0	8,6	11,5	15,4	18,8	11,5	0,2	0,0
	8,5	7,1	8,7	11,7	15,7	19,2	11,7	0,3	0,0
	9,0	7,2	8,8	11,9	16,0	19,6	11,9	0,3	0,0
	9,5	7,3	9,0	12,1	16,3	20,1	12,1	0,3	0,0
	10,0	7,4	9,1	12,2	16,6	20,6	12,2	0,3	-0,1
	10,5	7,5	9,2	12,4	16,9	21,0	12,4	0,3	-0,1
	11,0	7,7	9,4	12,6	17,3	21,5	12,6	0,3	-0,1
	11,5	7,8	9,5	12,8	17,6	22,0	12,8	0,3	-0,1
	12,0	7,9	9,6	13,0	18,0	22,6	13,0	0,3	-0,2
	12,5	8,0	9,7	13,2	18,4	23,1	13,2	0,3	-0,2
	13,0	8,1	9,9	13,5	18,7	23,6	13,5	0,3	-0,2
	13,5	8,3	10,0	13,7	19,1	24,2	13,7	0,3	-0,2
	14,0	8,4	10,2	13,9	19,5	24,8	13,9	0,3	-0,3
	14,5	8,5	10,3	14,1	19,9	25,4	14,1	0,3	-0,3
	15,0	8,7	10,4	14,3	20,4	26,1	14,3	0,3	-0,3
	15,5	8,8	10,6	14,6	20,8	26,7	14,6	0,3	-0,3
	16,0	9,0	10,7	14,8	21,3	27,4	14,8	0,3	-0,4
Mädchen	1,0	5,7	7,1	9,5	12,3	14,5	9,5	0,2	0,4
	1,5	5,8	7,2	9,6	12,5	14,7	9,6	0,2	0,4
	2,0	5,9	7,3	9,8	12,7	14,9	9,8	0,2	0,4
	2,5	6,0	7,4	9,9	12,8	15,0	9,9	0,2	0,4
	3,0	6,1	7,5	10,0	12,9	15,1	10,0	0,2	0,4



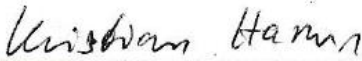
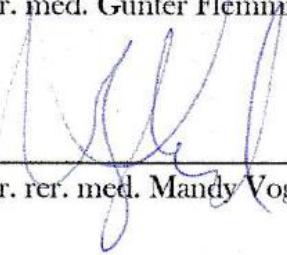

	3,5	6,2	7,6	10,1	13,0	15,2	10,1	0,2	0,4
	4,0	6,2	7,7	10,2	13,1	15,3	10,2	0,2	0,4
	4,5	6,3	7,8	10,3	13,3	15,5	10,3	0,2	0,4
	5,0	6,4	7,9	10,4	13,4	15,6	10,4	0,2	0,4
	5,5	6,5	8,0	10,6	13,6	15,8	10,6	0,2	0,4
	6,0	6,7	8,1	10,7	13,8	16,1	10,7	0,2	0,4
	6,5	6,8	8,2	10,9	14,1	16,3	10,9	0,2	0,4
	7,0	6,9	8,3	11,1	14,3	16,5	11,1	0,2	0,4
	7,5	7,0	8,5	11,2	14,5	16,8	11,2	0,2	0,4
	8,0	7,1	8,6	11,4	14,8	17,1	11,4	0,2	0,4
	8,5	7,2	8,7	11,6	15,1	17,4	11,6	0,2	0,4
	9,0	7,3	8,9	11,8	15,3	17,7	11,8	0,2	0,4
	9,5	7,4	8,9	12,0	15,6	18,0	12,0	0,2	0,4
	10,0	7,4	9,0	12,0	15,7	18,1	12,0	0,2	0,4
	10,5	7,4	8,9	12,0	15,7	18,1	12,0	0,2	0,4
	11,0	7,3	8,8	11,9	15,6	18,0	11,9	0,2	0,4
	11,5	7,1	8,6	11,7	15,4	17,8	11,7	0,2	0,4
	12,0	7,0	8,5	11,5	15,1	17,5	11,5	0,2	0,4
	12,5	6,8	8,3	11,3	14,9	17,3	11,3	0,2	0,4
	13,0	6,7	8,1	11,1	14,8	17,1	11,1	0,2	0,4
	13,5	6,6	8,0	11,0	14,7	17,0	11,0	0,2	0,4
	14,0	6,6	8,0	11,0	14,6	16,9	11,0	0,2	0,4
	14,5	6,5	7,9	11,0	14,6	16,9	11,0	0,2	0,4
	15,0	6,5	7,9	10,9	14,7	17,0	10,9	0,2	0,4
	15,5	6,5	7,9	11,0	14,7	17,0	11,0	0,2	0,4
	16,0	6,5	7,9	11,0	14,8	17,1	11,0	0,3	0,4
Dargestellt sind die 3te, 10te, 50te (Median = Mu), 90te und 97te Perzentile sowie Variabilität (Sigma), Schiefe (Nu) und Kurtosis (Tau) für Jungen und Mädchen zwischen elf Monaten und 16 Jahren. Diese Angaben entsprechen interpolierten Werten. N = Fallzahl.									

Tabelle 6. Eine Auswahl publizierter pädiatrischer Referenzwerte für ALT, AST und GGT.						
Autoren	Schwimmer et al. [55] (SAFETY study)	Estey et al. [49] (CALIPER)	England et al. [50]	Dehghani et al. [48]	Zierk et al. [47]	Dortschy et al. [82] (KiGGS)
Jahr	2010	2013	2009	2013	2015	2009
Land	USA	Kanada	7 europäische Länder	Iran	Deutschland	Deutschland
Studien- population	Teilnehmer der <i>National Health and Nutrition Examination Survey</i> 1999 - 2006	Patient*innen des <i>Hospital for Sick Children</i> (Toronto)	1293 Hepatitis C-negative Kinder von Hepatitis C-positiven Frauen des <i>European Pediatric HCV Networks</i>	Gesunde Kinder und Jugendliche, die über reguläre Gesundheitscheck-ups rekrutiert wurden	Ambulante und stationäre Patient*innen des Universitätsklinikums Erlangen	Populations-basierte Rekrutierung
Alter (Jahre)	12 - 17	0 - 18	0 - 5	1 - 15	0 - 18	1,5 -17,5
Fallzahl	982	200	5011	500	ALT: 51574 AST: 52039 GGT: 45978	GGT: 14076
Ausschluss- kriterien	BMI < 5ter und > 85ter Pz., Einnahme potenziell hepatotoxischer Medikamente, virale Hepatitis, Eisenüberlastung, HIV- Infektion, Triglyzeride > 150 mg/dl, HDL-C < 40 mg/dl (Jungen), < 50 mg/dl (Mädchen), Nüchternblutzucker ≥ 100 mg/dl	Statistische Ausreißer	Hepatitis C-Virus Infektion	BMI < 5ter und > 95ter Pz., Cholesterol > 200 mg/dl, Triglyzeride > 150 mg/dl, Nüchternblutzucker > 100 mg/dl, Virale Infektion, chronische Erkrankung, Medikamenten- einnahme	Nicht spezifiziert	Nicht spezifiziert

Assay/ Device	Nicht spezifiziert	Roche Cobas 6000, Abbott ARCHITECT c8000, Beckman Coulter DxC800, Ortho Vitros 5600, Siemens Vista 1500	Nicht spezifiziert	Selectra XL analyzer (Xlab Solutions, Romania)	Cobas Integra 800	Hitachi 917, optimierte IFCC- Methode (Roche, Mannheim)
Methode	SUDAAN 9.0 Modul, primäres Sampling, Stratifizierung und Gewichtung, geschlechtsspezifische 95te Pz.	Assay-spezifische alters- und geschlechtsspezifische pädiatrische Referenzintervalle nach den CLSI C28-A3 und EP9-A2 Leitlinien	Alters- und geschlechtsspezifische Pz. mithilfe der LMS- Methode generiert	Geschlechts- spezifische Pz., normalverteilte Population, separate Altersgruppen	Indirekter Ansatz: von diskreten Referenzintervalle in kontinuierliche, geschlechts- spezifische Referenzintervalle	Alters- und geschlechtsspezifische Pz. mithilfe der LMS- Methode generiert
Ergebnis	95te Pz. von ALT für 12 - 17-Jährige: 25,8 U/L (Jungen), 22,1 U/L (Mädchen)	95te Pz. von ALT in 3 Altersintervallen und 95te Pz. von AST in 5 Altersintervallen	95te Pz. von ALT: Geburt, 1 M, 3 M, 6 M, 12 M, 18 M, 2 J, 5 J	95te Pz. von ALT und AST in 3 Altersintervallen: 1 - 5 J, 5 -10 J, 10 -15 J	2,5te, 50te und 97,5te Pz. von ALT, AST, GGT in kontinuierlichen Altersgruppen von 0 T - 6570 T	3te, 5te, 10te, 25te, 50te, 75te, 90te, 95te und 97te Pz. von GGT mit einem kontinuierlichen Ansatz von 1,5 -17,5 J
SAFETY = Screening ALT For Elevation in Today's Youth; BMI = Body-Mass-Index; Pz. = Perzentile; HDL-C = High-Density-Lipoprotein-Cholesterin; ALT = Alanin-Aminotransferase; J = Jahr; CALIPER = CANadian Laboratory Initiative in PEdiatric Reference Intervals; CLSI = Clinical and Laboratory Standards Institute; AST = Aspartat-Aminotransferase; T = Tag; HCV = Hepatitis C Virus; LMS = L: skewness, M: median, S: Variationskoeffizient; M = Monat; GGT = Gamma-Glutamyltransferase; KiGGS = Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland; IFCC = International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.						

V Darstellung des eigenen Beitrags

Das Konzept der Publikation habe ich gemeinsam mit meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Wieland Kieß und meinem Ko-Betreuer Herrn Dr. med. Gunter Flemming erarbeitet. Die verwendeten Daten stammen aus der LIFE CHILD-Studie. Bei der Datengenerierung und Datenbereinigung in der Studienambulanz von LIFE CHILD habe ich als studentische Hilfskraft mitgearbeitet. Die Zielparameter ALT, AST und GGT sowie alle weiteren Laborparameter wurden durch die Mitarbeiter*innen des Instituts für Labormedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik (ILM) des Universitätsklinikums Leipzig analysiert. Die statistische Datenanalyse und die Interpretation der Ergebnisse wurden von mir selbstständig durchgeführt; mit freundlicher Unterstützung von Frau Dr. rer. med. Mandy Vogel und Frau Dr. rer. medic. Diana Pietzner. Die Publikation wurde von der Erstautorin selbstständig erarbeitet und formuliert und kritische und hilfreiche Kommentare der Ko-Autor*innen im Verlauf eingearbeitet.

 Prof. Dr. med. Wieland Kieß	Prof. Dr. med. Ulrich Baumann
 Dr. med. Gunter Flemming	 Dr. med. Kristian Harms
 Dr. rer. med. Mandy Vogel	Dr. med. Norman Händel
Dr. rer. medic. Diana Pietzner	Theresa Buzek
 Prof. Dr. med. Anja Körner	Dr. rer. nat. Melanie Penke

VI Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

Datum, 24.09.2020



Sarah Bußler